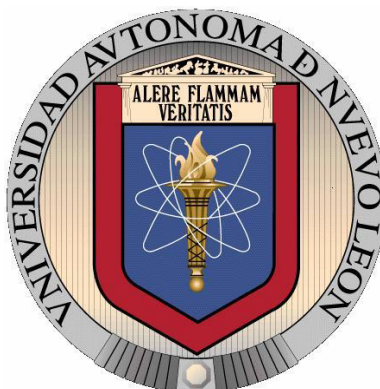


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



TESIS

**EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN-COCCIÓN EN LA FORMACIÓN DE ALMIDÓN
RESISTENTE Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE PRODUCTOS
CON EFECTO HIPOGLUCEMIANTE**

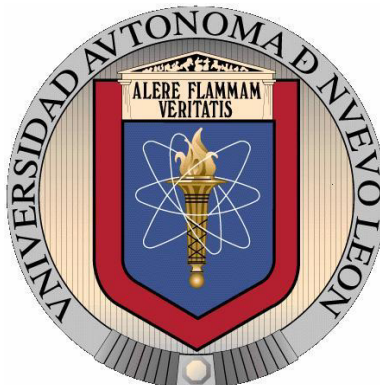
PRESENTADA POR

M.C. DAVID NEDER SUÁREZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS**

FEBRERO, 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



TESIS

**EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN-COCCCIÓN EN LA FORMACIÓN DE ALMIDÓN
RESISTENTE Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE PRODUCTOS
CON EFECTO HIPOGLUCEMIANTE**

PRESENTADA POR

M.C. DAVID NEDER SUÁREZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS**

FEBRERO, 2017



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Facultad de Ciencias Biológicas
Subdirección de Posgrado

FCB-SP0013/2017

M.C. DAVID NEDER SUÁREZ

Alumno del Doctorado en Ciencias con
Acentuación en Alimentos

Presente.-

En sesión del Comité Doctoral celebrada el día **16 de diciembre del 2016**, fue **APROBADA** la tesis titulada **"Efecto de la extrusión-cocción en la formación de almidón resistente a su aplicación en el desarrollo de productos con efecto hipoglucemiante."** Así mismo le informo que puede seguir con los trámites académicos correspondientes para su titulación.

Sin más por el momento, agradezco sus atenciones ala presente y le envió un cordial saludo.

Atentamente
"Alere Flammam Veritatis"
Ciudad Universitaria, 2 de Enero del 2017.



DR. PABLO ZAPATA BENAVIDES
Secretario Técnico de Posgrado

SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

c.c.p. archivo
Myriam*

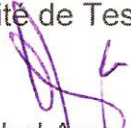


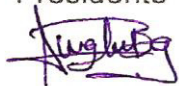
"Educación de clase mundial,
un compromiso social"

Ciudad Universitaria
C.P. 66455. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México
Tels.: (81) 8376 3991 • 8329 4000, ext. 3651
diana.resendezpr@uanl.edu.mx

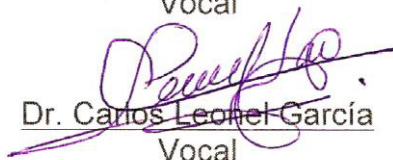
EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN-COCCIÓN EN LA FORMACIÓN DE ALMIDÓN
RESISTENTE Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE PRODUCTOS
CON EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE


Comité de Tesis


Dr. Carlos Abel Amaya Guerra
Presidente


Dr. Juan Gabriel Báez Gonzales
Secretario

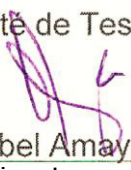

Dra. Ma. Guadalupe Alanís Guzmán
Vocal


Dr. Carlos Leonel García
Vocal

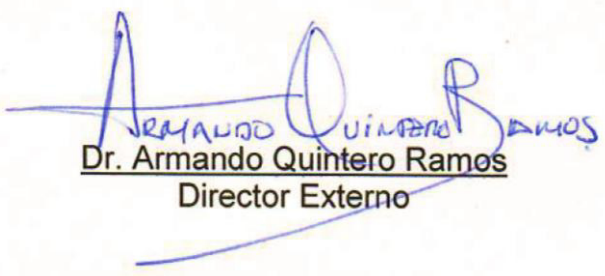

Dra. María Adriana Núñez González
Vocal

EFFECTO DE LA EXTRUSIÓN-COCCIÓN EN LA FORMACIÓN DE ALMIDÓN
RESISTENTE Y SU APLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE PRODUCTOS
CON EFECTO HIPOGLUCEMIANTE

Comité de Tesis



Dr. Carlos Abel Amaya Guerra
Director



Dr. Armando Quintero Ramos
Director Externo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, en especial a la Posgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas, y todos sus integrantes por su apoyo para el desarrollo de mi programa de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por su apoyo a través de la beca mediante la cual pude permanecer el programa de posgrado

A la Universidad Autónoma de Chihuahua, al Instituto Tecnológico de Monterrey, a la Universidad Autónoma de Sinaloa así como a sus integrantes por su apoyo en el desarrollo experimental del proyecto de tesis.

Al Dr. Armando Quintero y al Dr. Carlos Amaya por ser mis directores, guías y apoyo durante todo desarrollo del programa.

A los asesores que colaboraron durante el desarrollo del programa: Dra. Guadalupe Alanís Guzmán, Dr. Juan Gabriel Báez, Dra. María Adriana Núñez y Dr. Carlos Leonen García.

A mis compañeros de programa, quién me apoyaron constantemente en muchas actividades.

A mis grandes amigos que siempre están ahí y me han tendido su mano apoyándome incondicionalmente en decisiones y proyectos.

Y a todos aquellos que de alguna manera ayudaron a impulsar el desarrollo de mi proyecto de tesis y de mi programa de posgrado.

Sinceramente ¡Gracias!

DEDICATORIAS

En primer lugar a Dios por darme la fuerza y la paciencia para seguir adelante con este estudio, pues realmente fue muy necesaria su ayuda. “Gracias Dios” por darme ánimo en todos esos momentos.

A mis padres Guillermo y Josefina por su gran amor y apoyo constante durante todos estos años de estudio. Por su confianza, sus consejos y paciencia para emprender y terminar exitosamente todos los retos que me he propuesto. Y que a pesar de la distancia que nos ha separado siempre la llevo en mi corazón.

A mi hermana: Ruth por siempre brindarme su apoyo, amor y comprensión y por haber estado siempre pendiente de mí.

A mis grandes abuelos Juanita, Guillermo, Licha y Manuel, “Gracias” por todas sus enseñanzas, sus consejos, sus regaños, por quererme tanto y sé que gracias a su ayuda, hoy culmino un capítulo más en mi vida, a mis queridos abuelos que se fueron con Dios “Gracias” por cuidarme hasta el día de hoy desde donde estén.

A mi querida Esmeralda, por su paciencia, su ayuda, sus palabras, su fuerza y su amor.

A mi familia entera que a pesar de estar lejos, siempre me brindaron su apoyo y cariño para seguir adelante.

A mis amigos y compañeros que de uno u otro modo, formaron parte en la realización de este trabajo. Gracias por todo su apoyo y confianza.

A todas las personas que de una u otra forma formaron parte de mi vida durante la realización de este estudio, a las que están, a las que fueron y a las que llegarán.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xviii
I INTRODUCCIÓN.....	1
II ANTECEDENTES.....	4
2.1 Generalidades del maíz.....	4
2.2 Composición física del maíz.....	5
2.2.1 Pericarpio.....	5
2.2.2 Germen.....	6
2.2.3 Endospermo.....	7
2.3 Composición química del maíz.....	7
2.3.1 Almidón.....	8
2.4 Almidones modificados.....	10
2.4.1 Linternización (hidrolisis ácida del almidón).....	11
2.4.2 Proceso hidrotérmico.....	12
2.4.3 Proceso de Extrusión.....	13
2.4.3.1 Tipos de extrusores.....	13
2.4.3.2 Influencia de componentes durante la expansión.....	16
2.4.3.2.1 Almidón.....	16

2.4.3.3	Cambios fisicoquímicos en el almidón durante la extrusión .	16
2.4.3.3.1	Gelatinización.	17
2.4.3.3.2	Dextrinación.....	18
2.4.4	Retrogradación	20
2.4.4.1	Ventajas de la extrusión	21
2.5	Almidón resistente (AR).....	21
2.5.1	Tipos de almidón resistente	22
2.6	El papel de la fibra dietética en la dieta	25
2.6.1	Clasificación.....	26
2.6.2	Funciones y beneficios de la fibra dietaría	26
2.6.2.1	Acción sobre triglicéridos y colesterol.....	27
2.6.2.2	Control de la diabetes.....	27
2.7	Digestión del almidón en el ser humano.....	27
2.7.1	La rata como modelo para la digestión del almidón en los seres humanos	29
2.7.2	Beneficios a la salud	31
III	OBJETIVO	34
3.1	OBJETIVOS PARTICULARES	34
IV	METODOLOGÍA	35
4.1	Materia prima.....	35
4.2	Etapa 1	35
4.2.1	Diseño experimental y análisis estadístico.....	36
4.3	Etapa 2	38
4.4	Etapa 3	40
4.4.1	Proceso de hidrólisis química (AMCS).....	40
4.4.2	Proceso de extrusión (ECP).....	40

4.4.3	Proceso de autoclave ACCS.....	41
4.4.4	Diseño experimental.	41
4.4.5	Mediciones fisicoquímicas	41
4.4.5.1	Fibra soluble, insoluble y dietaria	41
4.4.5.2	Índices de absorción en agua (IAA) y solubilidad en agua (ISA) 42	
4.4.5.3	Almidón resistente (AR).....	43
4.4.5.4	Análisis térmico de almidón.....	44
4.4.5.5	Estudios reológicos.	44
4.4.5.6	Viscosidad (RVA)	45
4.4.5.7	Microscopía electrónica de barrido	46
4.4.5.8	Análisis de perfil de textura (TPA) en geles.....	47
4.5	Etapas 4	47
4.5.1	Formulación de dietas.....	47
4.5.2	Análisis proximal	48
4.5.3	Determinación de energía metabolizable,.....	48
4.5.4	Glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre.....	48
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
5.1	Etapas 1. Procesamiento de almidón de maíz sometido a extrusión-cocción.....	49
5.1.1	Caracterización de materia prima	49
5.1.2	Ajuste de Modelos	49
5.1.3	Índice de absorción de agua (IAA)	50
5.1.4	Índice de solubilidad en agua (ISA)	51
5.1.5	Propiedades viscoelásticas.....	58
5.1.6	Contenido de almidón resistente (AR)	63

5.1.7	Propiedades térmicas	65
5.1.8	Propiedades de pasta.	67
5.1.9	Análisis microestructural	71
5.1.10	Optimización de las condiciones de proceso para la formación de almidón resistente	73
5.1.11	Conclusión etapa 1.	74
5.2	Etapa 2. Procesamiento de almidón de maíz sometido a extrusión-cocción con adición de ácido cítrico.	75
5.2.1	Índice de absorción y solubilidad en agua de extruidos adicionados con ácido cítrico.	75
5.2.2	Viscosidad aparente y cantidad de almidón resistente de extruidos adicionados con ácido cítrico.....	77
5.2.3	Ajuste de Modelo	78
5.2.4	Optimización del proceso de extrusión-cocción con adición de ácido cítrico.	78
5.3	Etapa 3. Procesamiento de almidón de maíz sometido a hidrólisis ácida (AMCS), extrusión-cocción (ECP) y ciclos de autoclave e enfriamiento (AMCS)	84
5.3.1	Índice de absorción en agua (IAA) de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS.....	84
5.3.2	Índice de solubilidad en agua (ISA) de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS.....	84
5.3.3	Análisis térmico de almidones de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS	87
5.3.4	Análisis de perfil de textura (TPA) en geles	92
5.3.5	Análisis microestructural	96
5.4	Etapa 4. Evaluación de dietas con sustitución de AR en un modelo animal.	100
5.4.1	Estudio in vivo	100
5.4.2	Análisis proximal	100

5.4.3	Determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre	101
VI	CONCLUSIONES	105
VII	REFERENCIAS	107
VIII	ANEXO	117
8.1	Análisis de varianza de parámetros experimentales	117
8.2	Diagramas de proceso.	123
	ARTÍCULO	117

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de las partes del grano de maíz (<i>Zea mays L.</i>)..	7
Tabla 2. Variables de proceso y niveles utilizados en el diseño experimental para la etapa 1.....	36
Tabla 3. Relación entre el contenido de humedad y la alimentación de agua dentro del extrusor.....	37
Tabla 4. Diseño experimental para el proceso de extrusión etapa 1.	38
Tabla 5. Variables de proceso y niveles utilizados en el diseño experimental para la etapa 2.....	39
Tabla 6. Diseño experimental para el proceso de extrusión etapa 2.	39
Tabla 7. Ingredientes a utilizar para la elaboración de dietas basada en caseína (Bieri, 1980).	48
Tabla 8. Composición química del almidón nativo de maíz.	49
Tabla 9. Características reológicas del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.....	52
Tabla 10. Características fisicoquímicas del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.....	53
Tabla 11. Características reológicas (RVA) del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.....	54
Tabla 12. Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de almidón de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.	55
Tabla 13. Análisis de varianza de las características reológicas (RVA) de almidón de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.....	56
Tabla 14. Coeficiente de regresión del modelo de segundo orden de la relación entre la respuesta y la variable independiente de las características fisicoquímicas y reológicas de almidón de maíz extruido	57
Tabla 15. Valores experimentales y predichos para las variables de respuesta después del proceso de extrusión.	74
Tabla 16. Características fisicoquímicas del almidón nativo de maíz extruido con adición de ácido cítrico a diferentes condiciones de proceso.....	81

Tabla 17. Análisis de varianza de las características fisicoquímicas de almidón de maíz adicionado con ácido cítrico extruido a diferentes condiciones de proceso	82
Tabla 18. Coeficiente de regresión del modelo de segundo orden de la relación entre la respuesta y la variable independiente de las características fisicoquímicas de almidón de maíz adicionado con ácido cítrico extruido a diferentes condiciones de proceso.....	83
Tabla 19. Propiedades fisicoquímicas y reológicas del almidón de maíz sometido ACCS, AMCS y ECP.....	85
Tabla 20. Propiedades textura en almidón de maíz sometido a diferentes procesos	93
Tabla 21. Análisis proximal de dietas suministradas durante el bioensayo. ...	101
Tabla 22. Análisis de varianza para almidón resistente en harinas extruidas con la condición óptima.	117
Tabla 23. Análisis de varianza para almidón resistente en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.	117
Tabla 24. Análisis de varianza para ISA en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.....	117
Tabla 25. Análisis de varianza para IAA en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.....	118
Tabla 26. Análisis de varianza para viscosidad máxima en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.	118
Tabla 27. Análisis de varianza para Breakdown a AMCS, ECP y ACCS.....	118
Tabla 28. Análisis de varianza para entalpia en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.....	118
Tabla 29. Análisis de varianza para la temperatura de gelatinización en harinas sometidas a a AMCS, ECP y ACCS.	119
Tabla 30. Análisis de varianza para el contenido de humedad en dietas para bioensayo	119
Tabla 31. Análisis de varianza para el contenido de grasa en dietas suministradas durante el bioensayo.....	119
Tabla 32. Análisis de varianza para el contenido de cenizas en dietas suministradas durante el bioensayo.....	119

Tabla 33. Análisis de varianza para el contenido de fibra cruda en dietas suministradas durante el bioensayo.....	120
Tabla 34. Análisis de varianza para el contenido de proteína en dietas suministradas durante el bioensayo.....	120
Tabla 35. Análisis de varianza para el contenido de carbohidratos en dietas suministradas durante el bioensayo.....	120
Tabla 36. Análisis de varianza para el contenido de fibra soluble en dietas suministradas durante el bioensayo.....	120
Tabla 37. Análisis de varianza para el contenido de fibra insoluble en dietas suministradas durante el bioensayo.....	121
Tabla 38. Análisis de varianza para el contenido de fibra dietaría en dietas suministradas durante el bioensayo.....	121
Tabla 39. Análisis de varianza de glucosa en sangre	121
Tabla 40. Análisis de varianza de colesterol en sangre	121
Tabla 41. Análisis de varianza para triglicéridos en sangre	122
Tabla 42. Análisis de varianza para ganancia de peso en ratas wistar.....	122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de grano de maíz (Contreras. 2009).....	6
Figura 2. Estructura de la amilosa (a) y amilopectina (b) Badui. (2006).	10
Figura 3. Hidrolisis de almidón.....	11
Figura 4. Extrusor de tornillo simple (Platt, 2006).	14
Figura 5. Proceso general de extrusión (Platt, 2006, Torres and Pérez, 2006). 15	
Figura 6. Representación de proceso de gelatinización (Lai and Kokini, 1991).18	
Figura 7. Modelo propuesto de la degradación del almidón durante la extrusión A (Harper, 1989), B (Gómez and Aguilera, 1984).	19
Figura 8. Representación de proceso de retrogradación (Haralampu, 2000). ..	21
Figura 9. Modelo de micelas y laminillas (Sajilata et al., 2006).....	24
Figura 10. Representación del sistema digestivo (Perera et al., 2010).....	28
Figura 11. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre IAA (índice de absorción de agua) e ISA (índice de solubilidad en agua) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.	59
Figura 12. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre η (viscosidad aparente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a velocidad de 280 rpm.....	60
Figura 13. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre, G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida) y $\tan \delta$ (tangente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.	62
Figura 14. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre AR (almidón resistente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de tornillo de 280 rpm,	65
Figura 15. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre ΔH (entalpía) y T_g (temperatura de gelatinización) una velocidad de 280 rpm, EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C).	66

Figura 16. . Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a extrusión (AE) a diferentes contenido de humedad.	68
Figura 17. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre la viscosidad máxima y el Breakdown en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.....	69
Figura 18. . Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) de EBS (extruidos antes del almacenamiento) y de EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C).	70
Figura 19. Análisis microestructural. Almidón nativo (a-200x, b- 750x), almidón resistente 52% (c-200x, d-750x), almidón extruido (e/g-200x, f/h-750x).....	72
Figura 20. Región optimizada de la superposición de las gráficas de contorno de las características de las harinas obtenidas por extrusión. IAA, ISA, AR.	73
Figura 21. Efecto del contenido de humedad y cantidad de ácido cítrico, sobre Índice de absorción de agua (IAA) e Índice de solubilidad en agua (ISA) en EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a temperatura de 130 °C y velocidad de tornillo de 240 rpm.	76
Figura 22. Efecto del contenido de humedad y cantidad de ácido cítrico, sobre la viscosidad aparente (η) y el contenido de almidón resistente (AR) a temperatura de 130 °C y velocidad de tornillo de 240 rpm.	77
Figura 23. Región optimizada de la superposición de las gráficas de contorno de las características de las harinas obtenidas por extrusión con adición de ácido cítrico. IAA, ISA, AR.....	80
Figura 24. Propiedades físicas: índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA) del almidón de maíz sometido a ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.	86
Figura 25. Propiedades fisicoquímicas: almidón resistente (AR) y entalpía del almidón de maíz sometido a ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.	88
Figura 26. Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a diversos procesamientos ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.	91

Figura 27. Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a diversos procesamiento.	92
Figura 28. Propiedades de textura en geles de almidón sometidos ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.	94
Figura 29. Análisis microestructural de almidones modificados (1500x). ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (3 días/4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico, (a) estándar de almidón resistente 52%, (b) almidón de maíz, (c) AMCS/ACT, (d) AMCS/AFOS (e) AMCS/ACL, (f) ECP/almidón de maíz, (g) ECP/AMCS/ACT, , (h) ECP/AMCS/AFOS, (i) ECP/AMCS/ACL, (j) ACCS/almidón de maíz, (k) ACCS/AMCS/ACT, (l) ACCS/AMCS/AFOS, (m) ACCS/AMCS/ACL.	99
Figura 30. Grafica de efectos principales para: (a) colesterol en sangre, (b) triglicéridos en sangre, (c) Glucosa en sangre, (d) ganancia de peso, en ratas wistar alimentadas durante 45 con los diferentes tratamientos.	103
Figura 31. Diagrama de proceso general para obtención de harinas extruidas de almidón	123
Figura 32. Extrusor doble tornillo escala piloto marca (BTSK-20/40, Bühler AG, Uzwil, Switzerland) y productos extruidos.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 33. Diagrama de proceso general para obtención de harinas de almidón hidrolizados sometidas a proceso de extrusión-cocción.	125
Figura 34. Extrusor doble tornillo nivel laboratorio marca (LT70 Shandong Light M&E) y productos extruidos de almidones hidrolizados.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 35. Diagrama de proceso general para obtención de harinas de almidón hidrolizados por proceso hidrotérmico.	127
Figura 36. Proceso de obtención de almidón resistente por ciclos de autoclave.	128
Figura 37. Perfil viscoamilográfico típico de almidón nativo de maíz.	129
Figura 38. Gráfica de la diferencia de la tangente del ángulo de fase ($\Delta \tan \delta$) contra la frecuencia de 1 a 10 rad/s.	129
Figura 39. Endotermas presentes en el almidón de maíz.	130
Figura 40. Bioensayo y toma de muestras utilizando ratas Wistar.	131

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ΔH	Entalpía de gelatinización
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
μg	Microgramos
μL	Micro litros
μm	Micrómetros
AOAC	Association of official analytical chemists
AR	Almidón resistente
b.s.	Base seca
cm	Centímetros
cP	Centipoises
DA	Densidad Aparente
dL	Decilitros
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
G'	Módulo de almacenamiento
G''	Módulo de pérdida
g	Gramos
h	Hora
IAA	Índice de absorción en agua
ISA	Índice de solubilidad en agua
Kg	Kilogramo
KJ	Kilo Joules
m	Metro
m^3	Metro cúbico
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
η	viscosidad aparente
Pa	Pascal
rad	Radianes
rpm	Revoluciones por minuto
RVA	Rapid Visco Analyser
s	Segundos
SEM	Microscopia electrónica de barrido
Tg	Temperatura de gelatinización

RESUMEN

El almidón es importante para la industria alimentaria; Sin embargo, el consumo conduce a la liberación de azúcares simples, que puede tener un impacto negativo en la salud de los consumidores. Estos efectos adversos pueden reducirse mediante la formación de almidón resistente (AR), el cual no se digiere en el intestino delgado, promoviendo el desarrollo de microbiota benéfica para la salud de humano. Sin embargo, la producción de AR, se ha limitado debido a que los procesos de producción, son demandantes de energía, con bajos rendimientos y generadores de contaminantes al medio ambiente en algunos casos, por lo que la búsqueda de métodos y condiciones procesos para la producción de AR por procesos amigables con el medio ambiente, como la extrusión-cocción podrían favorecer la producción de este producto.

Este estudio se dividió en tres etapas experimentales la primera es la siguiente: teniendo como objetivo fue evaluar el efecto del proceso de extrusión-cocción y el almacenamiento a baja temperatura en la formación de AR de harinas obtenidas. El almidón de maíz nativo se acondicionó a diferentes contenidos de humedad (20, 25, 30, 35 y 40%), temperaturas de extrusión (90, 100, 110, 120 y 130 ° C) y velocidades de tornillo (200, 240, 280, 320 y 360 rpm), bajo un diseño experimental compuesto central de tres variables con 5 niveles, se analizó usando la metodología de superficie de respuesta. Las harinas extruidas se almacenaron a 4 ° C durante 120 h, fueron secas, molidas y almacenadas a temperatura ambiente hasta el análisis. El índice de absorción (IAA) de agua, índice de solubilidad en agua (ISA), AR, propiedades de pasta, propiedades térmicas y microestructurales fueron evaluados antes y después del almacenamiento en las harinas extruidas. La temperatura de extrusión y el contenido de humedad afectaron significativamente ($P < 0.05$) la mayoría de propiedades físico-químicas de harinas extruidas con y sin almacenamiento.

El AR, se produjo mediante extrusión-cocción, mostrando incremento al aumentar el contenido de humedad y la temperatura de extrusión. Se encontraron comportamientos relacionados con esta tendencia en propiedades de pasta y propiedades térmicas. El análisis microscópico muestra el daño a la estructura de almidón nativo causada por el proceso de extrusión-cocción, debido a la gelatinización, retrogradación. Las mejores condiciones para la formación de AR (1.140 g/100 g) se encontraron en 120 °C, con un contenido de humedad 35% y una velocidad de tornillo de 320 rpm. Aunque la formación de AR no fue alta, estos resultados sugieren que el proceso de extrusión-cocción puede representar una ventaja; debido a que es un proceso continuo, amigable con medio ambiente, con bajos tiempos de residencia, con aplicaciones en la industria alimentaria.

La siguiente etapa tuvo como objetivo incrementar la cantidad de AR obtenida en la etapa 1, mediante el proceso de extrusión cocción con adición de ácido cítrico. Para ésto el almidón de maíz nativo se acondicionó a diferentes contenidos de humedad (20, 25, 30, 35 y 40%) y concentraciones de ácido cítrico (0.0, 1.5, 5.2, 8.8 y 10.3 %) a una velocidad de tornillo (233 rpm), a una temperatura de 127 °C, bajo un diseño experimental compuesto central de dos variables con 5 niveles, se analizó usando la metodología de superficie de respuesta. Las harinas extruidas se almacenaron a 4 ° C durante 120 h, fueron secas, molidas y almacenadas a temperatura ambiente hasta el análisis. IAA, ISA, AR, y viscosidad aparente fueron evaluadas. El contenido de humedad afectó significativamente ($P < 0.05$) a todas las propiedades analizadas. Las mejores condiciones para la formación de AR (1,150 mg / 100 g) se encontraron en 127 °C, un contenido de humedad 18%, una velocidad de tornillo de 233 rpm y una concentración de ácido cítrico del 8.8 %. Debido al poco incremento de AR con la etapa anterior se procedió a realizar nuevas metodologías de procesamiento etapa tres.

El objetivo de la etapa tres fue evaluar el efecto de la hidrólisis ácida, procesamiento hidrotérmico, extrusión-cocción y combinación de todos estos

procesos en el incremento de la producción de AR. El almidón de maíz nativo fue sometido a una hidrólisis ácida con tres tipos de ácidos (cítrico, fosfórico y clorhídrico), este a su vez fue sometido a dos procesos: el primero a extrusión cocción a condiciones de 18 % de contenido de humedad, temperatura de extrusión de 100 °C y una velocidad de 220 rpm. Las harinas extruidas se almacenaron a 4 °C durante 120 h, fueron secas, molidas y almacenadas a temperatura ambiente hasta el análisis. El segundo proceso fue someter los almidones hidrolizados a tres ciclos de autoclave (120 °C/ 1h) y almacenamiento a 4°C por 24h, posteriormente secados y almacenados para su análisis. IAA, ISA, AR, propiedades de la pasta y análisis estructural fueron evaluadas. Las muestras con mayor cantidad de AR, fueron evaluadas en pruebas biológicas in vivo (niveles de glucosa libre, triglicéridos, colesterol en sangre y ganancia de peso durante el bioensayo determinadas a diferentes tiempos). La mayor producción ($P < 0.05$) de AR (13.19 g/100 g) se encontró utilizando almidón de maíz hidrolizado con ácido clorhídrico sometido a ciclos de autoclave e inflamamiento. El consumo de dietas balanceadas con adición de almidón resistente, no mostraron diferencia significativa en los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas wistar a los 45 días de consumo comparadas con la dieta control, sin embargo mostraron una ligera tendencia a bajar estos niveles entre mayor sustitución de AR (8.45%) presente en la dieta.

ABSTRACT

Starch is important for food industry; however, consumption leads to the release of single sugars, which can have a negative impact on the health of consumers. These adverse effects can be reduced by forming resistant starch (RS). That which is not digested in the small intestine, promoting the development of beneficial microbial with health benefits, However, this production has been limited to demanding processes in energy, low yields and generators of pollutants in some cases, so the search for methods and process conditions for the production of RS by environmentally friendly processes, as extrusion-cooking could favor the production of this product.

The aim of this study was to evaluate the effect of extrusion-cooking process and low temperature storage in the formation of RS of flours obtained. Native cornstarch was conditioned at different moisture contents (20, 25, 30, 35 and 40%) and extruded at different temperatures (90, 100, 110, 120 and 130 °C) and screw speeds (200, 240, 280, 320 and 360 rpm) under a central composite experimental design of three variables with 5 levels and analyzed using response surface methodology. The extruded flours were stored at 4 °C for 120 h, dried, ground and stored at room temperature until analysis. The water absorption and solubility index, RS, pasting, thermal and microstructural properties were evaluated before and after storage in the extruded flours. Extrusion temperature and moisture content affected significantly the physicochemical properties in extruded flours with and without storage.

Extrusion-cooking process produced minimal amounts of RS, however, increases in the moisture content and extrusion temperatures caused increases of RS content. Behaviors related to this trend were found in pasting and thermal properties. Microscopic analysis shows the damage to the native starch structure caused by a process of extrusion-cooking, which produces gelatinization, retrogradation, and formation of RS. The best conditions for the formation of RS (1.140 g/100 g) was found at 120 °C, 35% moisture content and a screw speed of 320 rpm. Although the RS formation was not high, these

results suggested that the extrusion-cooking process could represent an advantage; due to it is a continuous process without pollution and important short time with applications in food industry.

The next stage had the aim to increase the amount of AR obtained in previous stage by extrusion cooking process with addition of citric acid. Native corn starch was conditioned at different moisture contents (20, 25, 30, 35 and 40%), citric acid concentrations (0.0, 1.5, 5.2, 8.8 and 10.3%), screw speed (233 rpm) and extrusion temperature 127 °C, under a central experimental design composed of two variables with 5 levels, and analyzed using response surface methodology. The extruded flour stored at 4 ° C for 120 h, dried, ground and stored at room temperature until analysis. The water absorption and solubility index, RS, apparent viscosity were evaluated. Moisture content affect significantly in all properties tested. The best conditions for the formation of AR (1.140 g/100 g) was found at 127 ° C, moisture content 18%, screw speed 233 rpm and citric acid concentration of 8.8%. Due to little increase of RS in the previous stage proceeded to perform new processing methodologies. The next stage had the aim to increase the amount of RS by acid hydrolysis, hydrothermal processing, ECP and combination of these processes. Native corn starch was subjected to acid hydrolysis with three types of acids (citric, phosphoric and hydrochloric), after the hydrolysis the corn starch was subjected to two processes: the first ECP at moisture content 18%, extrusion temperature 100 °C and screw speed 220 rpm, extruded flours were stored at 4 ° C for 120 h, dried, ground and stored at room temperature until analysis.

The second process hydrolyzate corn starch was subjected to three cycles of autoclaving (120 ° C / 1h) and storage at 4 ° C for 24h, the product was dried, ground and stored at room temperature until analysis. WAI, WSI, RS, pasting and structural analysis were evaluated. It was determined that the best treatment production of RS was found using hydrolyzate cornstarch with hydrochloric acid under autoclave cycles and storage (13.19 g/100 g). With this considerable amount of RS generated, a study was conducted to verify the functional properties of RS.

The final stage was carried out using Wistar albino rats of a month old which were feed with balanced diets with different levels of substitution of RS, to increase the amount of dietary fiber 6.82 to 11.87%. The aim of this stage was to evaluate changes in the levels of free glucose, triglycerides, blood cholesterol and weight gain during the bioassay, several blood samples were took during the time (0, 15, 30, and 45 days) to evaluate these parameters. Intake of balanced diets with addition of RS did not show significant deference in the levels of glucose, cholesterol and triglycerides in Wistar rats at 45 days of consumption compared with control diet, however showed a slight tendency to lower these levels between greater substitutions of RS (8.45%).

I INTRODUCCIÓN

El almidón es un carbohidrato complejo compuesto por unidades de glucosa, constituido por amilosa y amilopectina (López-Rubio et al., 2007, Witczak et al., 2016), su uso en la producción de alimentos es muy amplia, pero no es muy atractivo, por las tendencias actuales del mercado enfocadas a la presentación de productos funcionales, que deriven en un beneficio para la salud. Una de las alternativas a estas tendencias es la formulación de productos con fibra solubles o el empleo de almidón resistente (AR), que es un almidón modificado o fracciones de almidón que no son absorbidos en el intestino delgado, y se considera como fibra dietética, con beneficios para la salud (Englyst et al., 1992; Haralampu, 2000). Existen varios tipos de AR: el tipo 1 es físicamente almidón inaccesible, tipo 2 son los gránulos de almidón nativo y alto contenido de amilosa, el tipo 3 es almidón retrogradado después de sufrir una gelatinización o dispersión gránulos y tipo 4 se modifica químicamente el almidón (Haralampu 2000; Kim et al., 2006; Perera et al., 2010, Thompson. 2000).

Su producción implica generalmente: (1) hidrólisis ácida o enzimática, se ha reportado que mediante el empleo de HCl se generaron niveles de 12-25% de AR (Chung et al. 2006; Koksel et al. 2008), mientras que la hidrólisis con ácido láctico generó de 2-8% (Onyango et al. 2006). (2) variedad de procesos químicos, como los reportados por Xie et al. (2004), reportaron niveles de 41.1% con adición de citrato, mientras que Song-Park y Shin. (2011) a través del empleo de fosfatos alcanzó niveles del 25-70%. (3) Procesos hidrotermales, que utilizan altas temperaturas 110 °C y largos tiempos de proceso 3 días, generan niveles de 12% de AR (Hasjim y Jane, 2009), o la combinación de proceso hidrotérmico con hidrólisis ácida (Dundar y Göçmen 2013; Nasrin y Anal, 2014; Ozturk, et al., 2011; Zhao y Lin, 2009) reportando niveles aproximados de 25% de AR, estos procesos, que presentan altos rendimientos tienen la desventaja de ser procesos lentos, cuyos tiempos de procesos pueden alcanzar horas e incluso días con altos costos de la energía con producción de

contaminantes, y en algunos casos son procesos tipo Bach con rendimientos muy bajos, por lo tanto son imprácticos para el escalamiento a nivel industrial.

Una tecnología con bajos niveles de contaminación y que representa ventajas tecnológicas para la producción de AR. En este proceso, es posible evaluar factores como contenido de humedad de los materiales, la temperatura de proceso, y velocidad del tornillo, que afectan la formación de AR. Durante el proceso de extrusión-cocción (ECP) ocurren transformaciones físicas y químicas en el almidón, que podrían impactar en la formación de AR, por lo que estas variables de operación deben estudiarse y establecerse en forma adecuada.

Esta tecnología, tiene la característica de ser un proceso continuo, de alta temperatura-tiempos cortos, con control de estos, en algunos sistemas, con una alta productividad ahorro de energía (Dust et al., 2004; Faraj et al., 2004; Kim et al., 2006; Moad. 2011; Stojceska et al. 2010). Algunos reportes muestran los esfuerzos realizados para evaluar el efecto de la temperatura, contenido de humedad y velocidad del tornillo durante la extrusión, tal como el presentado por Hasjim y Jane (2009), quienes utilizaron almidón de maíz con alta velocidad de tornillo sin producción de AR. Bello-Pérez et al. 2005 y Faraj et al. (2004), utilizaron alto contenido de humedad durante procesos de extrusión, generando bajos niveles de AR en almidón de plátano y avena respectivamente, debido a la falta de gelatinización y liberación de componentes del almidón para la formación de AR. Gonzales et al. (2006) evaluaron harina de trigo procesada a alta temperatura de extrusión obteniendo niveles pobres de AR debido a la alta dextrinación durante el proceso, dejando inutilizable el almidón para la generación de AR (Vasanthan et al. 2002). Otros autores como Agustiano et al. 2005 y González-Soto et al. (2007) evaluaron el efecto de la temperatura y contenido de humedad durante la extrusión de almidón de mango y plátano, generando mayores cantidades de AR, sin embargo, no especifican las condiciones óptimas del proceso para obtener los niveles más altos de AR. Lo que sugiere que se necesitan más estudios para evaluar la influencia de las

variables de extrusión en otros rangos del proceso de formación de AR, como la optimización del contenido de humedad, temperatura de extrusión, y la velocidad del tornillo que son críticos para la formación de AR. Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron evaluar y optimizar las condiciones de ECP, para determinar sus efectos sobre los cambios físicos, químicos y estructurales en AR formado a partir de almidón de maíz, y evaluarlo a un estudio en vivo en ratas para determinar su impacto en los parámetros séricos de glucosa, triglicéridos y colesterol.

II ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del maíz

El maíz es originario de América, ha sido, un componente básico de la alimentación de las culturas americanas muchos siglos antes de que los europeos llegaran al nuevo mundo. El origen de esta planta sigue siendo un misterio, existen pruebas concluyentes, aportadas por los hallazgos arqueológicos en el valle de Teotihuacán, al sur de México, ya se cultivaba maíz hace aproximadamente 4.600 años. Botánicamente, el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas, es una planta anual grande que posee un sistema de raíces fibrosas; es una especie que se reproduce por polinización cruzada y se distingue por poseer una flor femenina (elote, mazorca, espiga) y una flor masculina (espiguilla o panoja) separadas, aunque en la misma planta (Paredes-López y Saharópulos-Paredes, 1983; Watson y Ramstad, 1987).

El maíz silvestre primitivo no se diferenciaba mucho de la planta moderna en sus características botánicas fundamentales las numerosas variedades de maíz presentan características muy diversas: requiere de abundante luz solar y humedad suficiente para obtener un óptimo rendimiento, con climas que van desde el tropical hasta las montañas. Los periodos de crecimiento van de 42 hasta 400 días y su maduración en un periodo de dos hasta once meses dependiendo de la variedad (Watson y Ramstad. 1987). El follaje varía entre el verde claro y el oscuro, y puede verse modificado por pigmentos de color marrón, rojo o púrpura (Verrugio. 2009)

Tiene una diversidad de usos pues éste es aprovechable en su totalidad. Las raíces y el rastrojo quedan como abono en la tierra, los tallos y las hojas constituyen un buen forraje para el ganado, las hojas secas de la mazorca pueden emplearse para hacer papel y cigarros. Las mazorcas tiernas (elotes) son un alimento muy popular en sus diversas preparaciones. Con los granos ya secos se preparan las tortillas, atoles, y otros productos, del endospermo del grano se extrae el almidón que dentro de su usos está el obtener alcohol (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

2.2 Composición física del maíz

El grano de maíz es el cereal más grande, con un peso de 250 a 300 mg. Sin embargo existen diferencias en la forma y tamaño del grano debidas a diversos factores, como su genética y la posición que ocupan en la mazorca. El maíz está compuesto de cuatro partes principales mostradas en la Figura 1; pericarpio, germen, endospermo y la piloriza (Bartolo et al. 1999). Las variedades cultivadas fundamentalmente de maíz para alimentación comprenden el maíz dulce, reventador, dentado, harinoso y cristalino.

El maíz harinoso es un grano con endospermo blando empleado como alimento en México, Guatemala y otros países de América debido a que confiere un color más blanco a las harinas. El maíz de tipo dentado tiene un endospermo calloso y vítreo a los lados y el núcleo central es blando, caracterizado por una depresión en la corona del grano. El maíz cristalino posee un endospermo grueso, duro, vítreo, con un centro pequeño, los maíces incluidos en esta conformación son: granuloso y amiláceo (FAO. 2016). El Maíz dulce tiene un alto contenido de azúcar, es de aspecto transparente de consistencia cornea cuando es inmaduro y al madurar la superficie se arruga. El maíz dulce difiere del dentado por un gen que permite la conversión de parte del almidón en azúcar. Finalmente en el maíz céreo, su almidón está constituido exclusivamente por amilopectina, mientras que en los otros tipos el almidón es 73% amilopectina, 27 % amilasa (Verrugio. 2009), el maíz se divide en diferentes partes:

2.2.1 Pericarpio.

El pericarpio o cascarilla es la parte estructural más externa del grano de maíz y es una película, la cual cubre y protege el interior del grano, que tiene un espesor que varía de 60 a 80 μm , y está compuesta principalmente de fibra cruda (87%), formada fundamentalmente por 67% de hemicelulosa, 23% de celulosa y 0.1% de lignina que tienen importancia para la alimentación como fibra dietética. El pericarpio se compone: exteriormente de una cutícula impermeable al agua con un grosor de 0.7 a 1 μm , la epidermis con grosor de 4

a 6 μm , el mesocarpio, las células cruzadas y las células tubulares. Además, el pericarpio tiene un peso aproximado de 5 - 6% del peso total del maíz (Bartolo et al. 1999; FAO2. 2011; Watson, Ramstad. 1987).

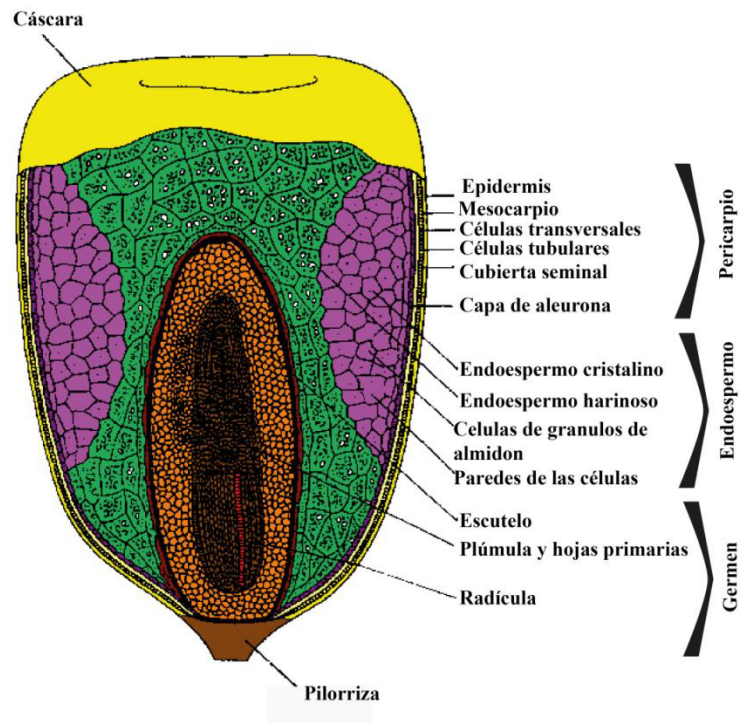


Figura 1. Estructura de grano de maíz (Contreras. 2009).

2.2.2 Germen

Consiste en un embrión y de un escutelo (cotiledón) que funciona como un órgano nutritivo para el embrión durante la germinación. El germen representa del 10-12% del peso seco del grano y se compone principalmente de grasas 33%, 20% de proteínas y minerales, de los azúcares presentes en el germen cerca del 67% es glucosa (Hoseney. 1991; Watson y Ramstad, 1987).

2.2.3 Endospermo

El endospermo constituye la mayor parte del grano, generalmente representa el 82-84% del peso seco del grano. Sus células están saturadas principalmente de gránulos de almidón (87%), 8% de proteínas, y con un contenido de grasa relativamente bajo. El endospermo está compuesto por dos tipos: el endospermo cristalino y el harinoso, el harinoso es opaco y manejable entre los dedos, además de que está compuesto por células grandes, gránulos grandes de almidón y un nivel bajo de proteínas, en cambio el endospermo cristalino está compuesto por células pequeñas, pequeños gránulos de almidón y un nivel alto de proteínas (FAO2. 2011; Watson y Ramstad, 1987)

2.3 Composición química del maíz

La composición química del maíz se muestra en la Tabla 1, los carbohidratos son representados en su mayoría por el almidón, existen otros carbohidratos que son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían de 1-3% del grano

Tabla 1. Composición química de las partes del grano de maíz (*Zea mays L.*)

Componente	Grano	Almidón	Grasa	Proteína	Cenizas	Azúcares
Grano entero	100	71.5	10.3	4.8	1.4	9
Endospermo	82.3	87.6	0.8	9.4	0.3	0.62
Germen	11.5	8.3	34.5	18.8	10.5	10.6
Pericarpio	5.3	7.3	1	3.7	0.8	0.34
Pedicelo	0.8	5.3	3.8	9.1	1	1.6

Los porcentajes son promedios para cada componente (Watson y Ramstad, 1987)

Del total de la proteína del grano entero, alrededor de 52% son prolaminas (zeínas), y se localizan principalmente en el endospermo del grano, el resto lo constituyen las albúminas y globulinas (22%), las cuales se concentran en el germen, y las glutelinas (25%) encontradas tanto en el germen como en el endospermo. Sin embargo la calidad de las proteínas del maíz es pobre, debido

a su escaso contenido de aminoácidos esenciales (lisina y triptófano), las proteínas localizadas en el germen son ricas en aminoácidos esenciales, pero éstas sólo representan el 20% del total del grano. La zeína tiene cantidades insuficientes de lisina y triptófano y representa el 50% de la proteína total del maíz (Cuevas et al. 2006; Sánchez et al. 2007).

La fibra está compuesta por hemicelulosa, celulosa y lignina, principalmente, mientras que las grasas están compuestas por ácidos grasos poliinsaturados y tienen además pequeñas cantidades de minerales como P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn y Zn y algunas vitaminas como son la A, la E, tiamina y riboflavina, el almidón está constituido aproximadamente por 25% de amilosa y 75 % de amilopectina. (Badui, 2006; Cuevas et al., 2006; Fennema, 1999; Mondragón et al., 2004).

2.3.1 Almidón

El almidón es la mayor fuente de alimentación en los humanos y de algunos animales (Rahman et al., 2007), químicamente está constituido por polímeros de α -D-glucosa y está compuesto de dos macromoléculas de diferentes estructuras: la amilosa que es un polímero fundamentalmente lineal, que constituye hasta el 25-30% del almidón, y la amilopectina que es el componente ramificado y que constituye del 70-75% del almidón (Badui, 2006; Fennema, 2000, Singh et al., 2007).

La amilosa está constituida por cadenas largas no ramificadas, en las que todas las unidades de α -D-glucosa se encuentran unidas por medio de enlaces glucosídicos α -(1,4), que establece largas cadenas lineales con 200-2500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón de daltones, es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana, cuya unidad repetitiva es la α -maltosa. La amilopectina es diferente a la amilosa porque contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. Su peso molecular es muy alto de hasta

200 millones de daltones (Badui, 2006; Rahman et al., 2007; Witczak et al., 2016). En general, los almidones contienen aproximadamente 17-28% de amilosa, y el resto de amilopectina. La concentración relativa de estos dos polímeros está regida por factores genéticos típicos de cada cereal (Fennema, 2000).

2.3.2. Proteínas

El grano de maíz presenta un contenido de proteína que varía de 7 a 12% del peso del grano, dependiendo de la fuente de maíz extraída, en general los de endospermo suave tienen menor contenido que los de endospermo duro. El 52% del contenido de proteína en el grano, son prolaminas (zeínas), y se localizan principalmente en el endospermo del grano, el resto lo constituyen las albúminas y globulinas (22%), las cuales se concentran en el germen, y las glutelinas (25%) encontradas tanto en el germen como en el endospermo. Sin embargo la calidad de las proteínas del maíz es pobre, debido a su escaso contenido de aminoácidos esenciales (lisina y triptófano), las proteínas localizadas en el germen son ricas en aminoácidos esenciales, aunque éstas sólo representan el 20% del total del grano. La zeína tiene cantidades insuficientes de lisina y triptófano y representa el 50% de la proteína total del maíz (Sánchez et al., 2007; Cuevas-Rodríguez et al., 2006).

2.3.3. Lípidos

Los lípidos constituyen del 3 al 18% del peso del grano, dependiendo de la variedad genética y se encuentran principalmente en el germen (84%). La mayoría se encuentran como triglicéridos libres, teniendo bajos niveles de ácidos grasos saturados: palmítico (11%) y esteárico (2%). En cambio tiene altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados: linoléico (24%) y pequeñas cantidades de linolénico (0.7%) y araquidónico (0.2%). Además los lípidos del maíz son muy estables por contener muy poco ácido linolénico y altos niveles de antioxidantes naturales.

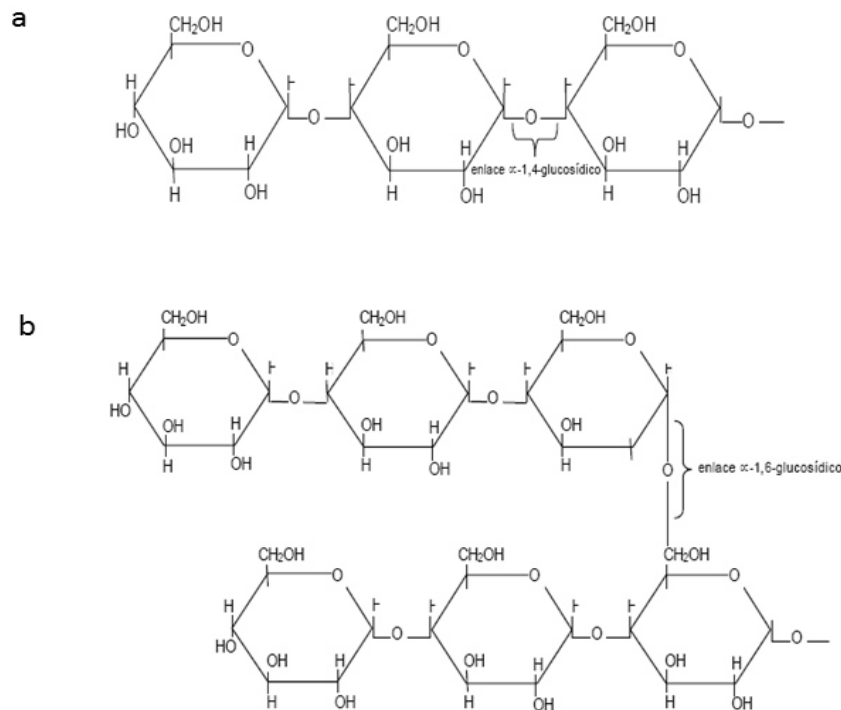


Figura 2. Estructura de la amilosa (a) y amilopectina (b) Badui. (2006).

2.4 Almidones modificados.

Los almidones nativos de diferentes fuentes poseen propiedades únicas, estas características son explotadas por los procesadores de alimentos para enfrentar necesidades específicas que satisfagan la funcionalidad deseada. Los procesos de modificación van encaminados a cambiar las características e integridad del gránulo de almidón alterando sus propiedades de cocimiento, gelatinización o retrogradación, para ser usados como agentes estabilizadores, emulsionantes, humectantes, espesantes, fibra (almidón resistente) con esto se cuenta con un almidón modificado para cada necesidad existen diversas formas de modificar un almidón entre las más utilizadas están:

2.4.1 Linternización (hidrolisis ácida del almidón)

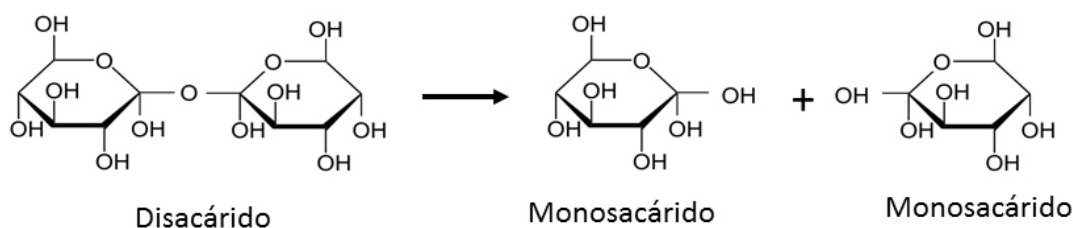


Figura 3. Hidrolisis de almidón.

Se define como una modificación con ácidos y se producen normalmente de una pasta de almidón (aproximadamente el 36% a

40% de sólidos), se calienta a una temperatura inferior a la temperatura de gelatinización del almidón (aproximadamente 40°-60°C) y se adiciona el ácido, con agitación por un periodo variado (alrededor de una a varias horas). Cuando se alcanza la viscosidad o el grado de conversión deseado, el ácido se neutraliza y el almidón se recupera por filtración o centrifugación, lavado y secado (Pedrosa, 2012)

Los ácidos hidrolizan los enlaces glucosúricos α 1-4 y 1-6, la primera etapa es atribuida a la rápida hidrolisis del almidón preferentemente la región amorfa, mientras que la hidrólisis lenta de la región cristalina ocurre en la segunda etapa, el periodo de hidrolisis lleva entre 5 a 15 días, este tiempo puede ser afectado por el tamaño del granulo, poros en la superficie, contenido de amilosa, contenido de amilopectina, distribución de las los enlaces entre la región amorfa y cristalina y el grado de empaque entre las dobles hélices con los cristales, la hidrólisis ocurre preferentemente en las regiones amorfas de los gránulos produciendo cadenas lineales en la primera etapa y permaneciendo las zonas cristalinas relativamente intactas (Vasanthan and Bhatt, 1998, Waduge et al., 2006, Wei et al., 2013).

La hidrólisis de un enlace glucosídico se lleva a cabo mediante la disociación de una molécula de agua del medio, el hidrógeno del agua se une al oxígeno del extremo de una de las moléculas de azúcar, el -OH se une al carbono libre del otro residuo de azúcar, el resultado de esta reacción, es la liberación de un monosacárido si se trataba de un disacárido o bien de un polisacárido restante si se trataba de un polisacárido más complejo (Coello et al., 2014, Nakazawa and Wang, 2003, Wang et al., 2003)

2.4.2 Proceso hidrotérmico

El proceso hidrotérmico (HTM), son modificaciones físicas que alteran las propiedades fisicoquímicas del almidón sin destruir su estructura granular, existen dos procesos los cuales requiere de un radio de humedad, temperatura y tiempo de calentamiento controlado (Zavareze et al., 2010). El HTM está restringido por la humedad (10-30%) con altas temperaturas (90-120°C) y el ANN involucra exceso de humedad (50-60%) con temperaturas por encima de la temperatura de transición vítrea pero por debajo de la aparición temperatura de gelatinización de almidón para un periodo de tiempo determinado (Jacobs and Delcour, 1998; Maache et al., 2008; Zavareze et al., 2010)

En almidones sometidos a HTM se producen cambios como: aumento de la estabilidad del gránulo, aumento de la estructura cristalina, formación de la doble hélices, aumento de la temperatura de gelatinización, el estrechamiento de la temperatura de gelatinización, disminución en forma granular por la hinchazón del almidón y la disminución de la lixiviación de la amilosa, sin embargo, dependiendo en la fuente de almidón, cristalinidad, interacciones de amilosa-lípido y la susceptibilidad hacia la hidrólisis ácida y enzimática puede aumentar, disminuir o permanecer sin cambios esta lixiviación (Chung et al., 2009; Zavareze and Guerra, 2011). Además mejoran su estructura cristalina facilitando la interacción entre las cadenas de almidón, conduce a una reorganización de moléculas de almidón y las dobles hélices de amilopectina adquieren más configuración organizada (Jacobs and Delcour, 1998).

2.4.3 Proceso de Extrusión

La extrusión de alimentos se define como el proceso mediante el cual materiales ricos en proteínas, almidones o altos en fibra son plastificados y cocidos en una cámara o cañón como resultado de altas temperaturas, presiones y esfuerzos mecánicos los cuales son forzados a fluir a través de un dado o boquilla, causando gelatinización del almidón reacciones de fragmentación y lixiviación de componentes (Lait and Kokini, 1991; Kaletunc and Breslauer, 1993)

La presión y el flujo pueden ser causados por un número de elementos, incluyendo pistones u rodillos, aunque estos son utilizados en muchos casos, el uso de tornillos es más importante (Pedrosa, 2012; Vollertsen et al., 1999)

2.4.3.1 Tipos de extrusores

Los extrusores se pueden categorizar en tres tipos principales: pistón, rodillos y tornillo. Los extrusores de pistón, son los más simples en diseño, se utilizan principalmente para dar forma a un material determinado. Consisten de un pistón o una batería de pistones, los cuales depositan cantidades muy precisas de material en una banda transportadora (Torres and Pérez. 2006).

Los extrusores de rodillos que también se emplean para dar forma, consisten en dos rodillos que giran en sentidos opuestos a velocidad similar o diferente y tienen superficies lisas o perfiladas. La abertura entre los rodillos puede ser cerrada para comprimir el material que pasa a través de ellos, o el extrusor puede estar diseñado para no impartir ningún tipo de presión. Los extrusores de rodillos vienen en varias configuraciones y son capaces de formar tiras de una sola capa, con varias capas (Platt, 2006).

Los extrusores de tornillos pertenecen a la tercera categoría y emplean tornillo sencillo, tornillos gemelos o múltiples rotando dentro de un cañón estacionario para empujar el material hacia adelante y a través de un orificio especialmente

diseñado llamado dado o boquilla. Una multitud de parámetros como son: la configuración de los tornillos, la velocidad del tornillo y la temperatura de las varias zonas del cañón, son seleccionados cuidadosamente para que su influencia en la extrusión sea deseable (Chokshi and Zia, 2004; ZiaHarper, 1989).

El extrusor básico de tornillo se muestra en la Figura 4, está generalmente compuesta por una tolva para recibir el material a ser extrudido un tornillo o tornillos rotando en un barril o cañón donde encajan casi exactos, siendo movilizados por un motor a través de una transmisión para reducir o variar la velocidad, el producto emerge por un dado (resistencia) con uno o más orificios del tamaño adecuado para cada aplicación en particular.

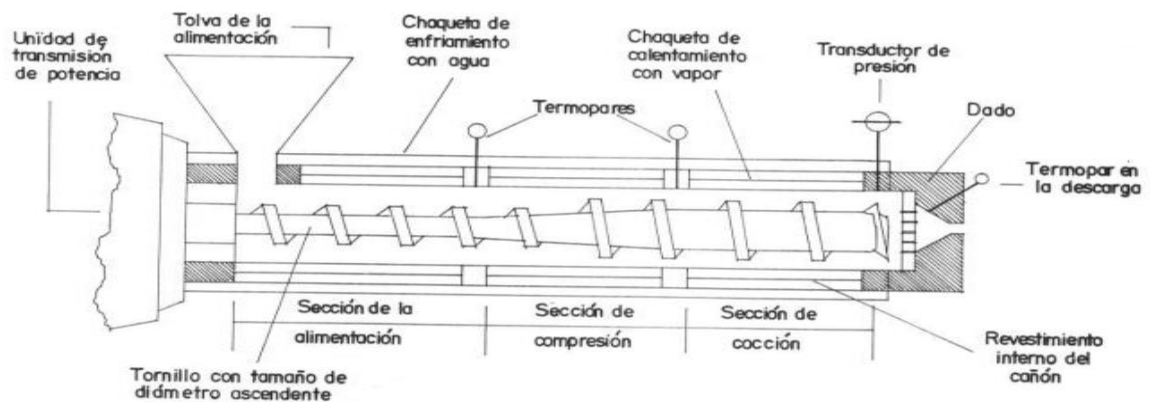


Figura 4. Extrusor de tornillo simple (Platt, 2006).

En la Figura 4 se muestra en las secciones del tornillo del extrusor que consta de 3 zonas principales: (1) La sección de alimentación se caracteriza por poseer alabes profundos que aceptan fácilmente los ingredientes crudos y los transportan hacia delante. Durante el proceso de transporte los materiales alimentados son trabajados en una masa continua, el aire es expulsado y los espacios vacíos son eliminados, haciendo que los alabes se llenen completamente. (2) La sección de compresión o transición, en esta sección del

tornillo los ingredientes húmedos son convertidos en una masa termoplástica, esta zona se caracteriza generalmente por la disminución de la altura de las hélices o restricciones internas consistentes de platos que restringen el área de sección transversal del tornillo al flujo. Estas restricciones incrementan la relación de esfuerzo de corte y la energía mecánica suministrada al alimento, resultando en un incremento en la temperatura. (3) La sección de cocimiento, es donde el flujo, la presión, compresión y velocidad de corte son altos. Esta zona se caracteriza porque la sección del tornillo tiene hélices poco profundas o hélices con una disminución del paso de tornillo. Aquí, la masa termoplástica se transforma en una masa plástica. Su función es recibir el material comprimido, homogeneizarlo y hacerlo pasar a través del dado a presión constante (Torres y Pérez, 2006).

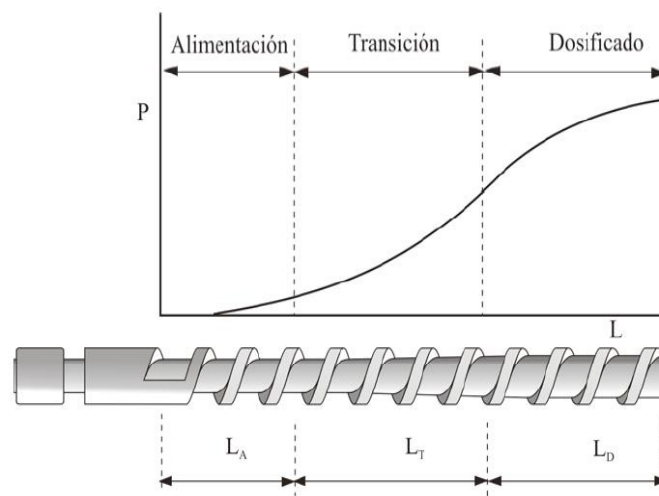


Figura 5. Proceso general de extrusión (Platt, 2006, Torres and Pérez, 2006).

El dado sirve principalmente como una resistencia al flujo, tiene una profunda influencia en la conducta del flujo del producto en el tornillo, y también contribuye directamente a la textura y a las diferentes formas en el producto. Se han desarrollado un gran número de dados que van desde un dado simple en forma de cilindro hasta dados múltiples donde las salidas de dos extrusores se

combinan por medio de un dado sencillo para obtener productos con características duales tales como dos colores o dos sabores (Platt, 2006).

Existen otros extrusores llamados de doble tornillo los cuales tienen una rotación opuesta unidos fuertemente como engranajes y rotan uno contra el otro. Por lo tanto, cada tornillo está dividido en una serie de cámaras separadas las cuales se mueven hacia el dado mientras que el tornillo rota, llevando el producto en ellas en un “desplazamiento positivo”. Dentro del proceso de extrusión autores como: Agustiniano et al. (2005), Faraj et al. (2004), González et al. (2007), Hagenimana, et al. (2006), Unlu and Faller (1998), mencionan que las temperaturas de extrusión pueden oscilar de 90-160 °C, con una humedad del 15-30% y dependiendo del tipo de extrusor la velocidad del tornillo puede ir de 90-300 rpm para la formación de almidón resistente.

2.4.3.2 Influencia de componentes durante la expansión

2.4.3.2.1 Almidón

El almidón se presenta como amilosa (un polímero lineal más soluble) y amilopectina (ramificada). La amilopectina promueve el inflado y la amilosa ofrece una textura quebradiza. La amilosa ocasiona una mayor expansión lineal, en tanto que la amilopectina lo hace más en forma radial. El nivel óptimo de humedad para la cocción (gelatinización) del almidón es aproximadamente 27 % y lleva a la obtención de un producto seco con máxima absorción de agua. A niveles de humedad de tan solo 8 a 10 %, el almidón resultante se dextriniza (se reduce a longitudes más cortas de polímeros de glucosa), se caracteriza por un aumento en la solubilidad al agua fría y por obtención de un producto pegajoso cuando se humidifica (Moad. 2011).

2.4.3.3 Cambios fisicoquímicos en el almidón durante la extrusión

En el proceso de extrusión de alimentos el almidón es el componente que juega el papel más importante, ya que los cambios que sufre afectan al producto final.

2.4.3.3.1 Gelatinización.

Es un proceso que ocurre cuando los gránulos de almidón que son insolubles en agua fría, debido a que su estructura altamente organizada y a las múltiples interacciones que existen entre sus dos polisacáridos se calientan en exceso de agua ocurre un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son fuertes, ni rígidos como en las áreas cristalinas. A medida que se incrementa la temperatura, las moléculas vibran más vigorosamente rompiendo interacciones intermoleculares favoreciendo que los sitios con capacidad de formar puentes de hidrógeno interactúen con más moléculas de agua, el gránulo empieza a hincharse y a aumentar su volumen, una vez que la parte amorfa se ha hidratado completamente, la zona cristalina comienza un proceso semejante. Inicialmente el hinchamiento es reversible pero al llegar a temperaturas cercanas a 65 °C dependiendo de la fuente de almidón, el gránulo alcanza su máximo volumen, si se sigue aplicando más calor, el gránulo hinchado es incapaz de retener más líquido y se rompe parcialmente quedando la amilosa y la amilopectina fuertemente hidratadas dispersándolas en la solución de almidón. El hinchamiento de los gránulos de almidón provoca que la viscosidad del medio se incremente. A todo este proceso se le llama gelatinización (Figura 6), que es una fase de transición de los gránulos de almidón de un estado ordenado a uno desordenado en el que absorbe calor, es decir, la gelatinización transforma los gránulos de almidón insolubles en una solución de las moléculas constituyentes en forma individual (Altay y Gunasekaran, 2006; Badui, 2006, Lait and Kokini, 1991).

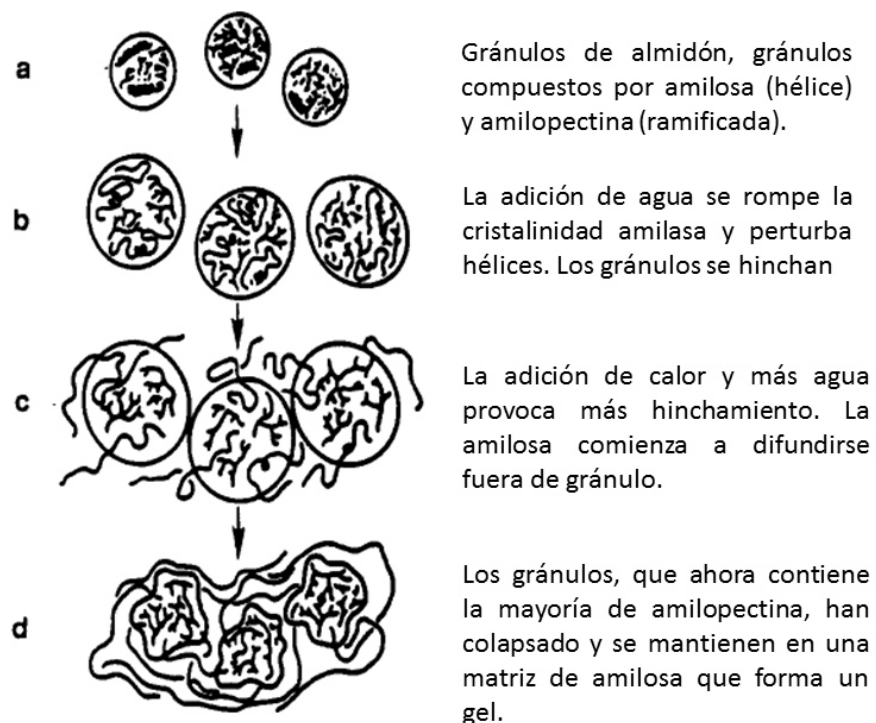


Figura 6. Representación de proceso de gelatinización (Lai and Kokini, 1991).

2.4.3.3.2 Dextrinación

Durante la extrusión, los almidones son sometidos a alta presión (hasta 10^3 psi), calor y las fuerzas de cizallamiento mecánicas los cuales rompen los enlaces glucosídicos formando fragmentos de menor peso molecular (dextrinas), con destrucción parcial o total de la estructura cristalina de los gránulos de almidón este fenómeno es conocido como fragmentación o dextrinización, la cual es definida como la hidrólisis parcial del almidón que resulta en productos que se pueden precipitar de una solución acuosa por alcohol (Whistler and Daniel, 1984). La fragmentación es considerada como la forma en que la amilosa se divide aleatoriamente, y se da en condiciones de baja humedad, alto esfuerzo de corte o alta temperatura (Gómez and Aguilera, 1983; Jackson et al., 1990; Lai and Kokini, 1991; Politz et al., 1994; Wen et al., 1990). Existe una disminución en la viscosidad y un incremento en la solubilidad de soluciones de

almidón después de la extrusión. El mecanismo de fragmentación es reportado como la forma en que la amilopectina se des ramifica limitadamente, lo cual causa una disminución general significativa del peso molecular sin cambiar apreciablemente el porcentaje de enlaces 1-6 analizados por el número relativo de reducción de grupos terminales (Figura 7A). La fragmentación es considerada como la forma en que la amilosa se divide aleatoriamente (Lai and Kokini, 1991; Wen et al., 1990), y fuera del extrusor debido a la diferencia de presión se genera la evaporación del agua (Figura 7B), al incrementar la temperatura se genera expansión y una estructura más suave debido al gran número de poros generados durante la evaporación (Jongsutjarittam and Charoenrein, 2014; Lazou and Krokida, 2010)

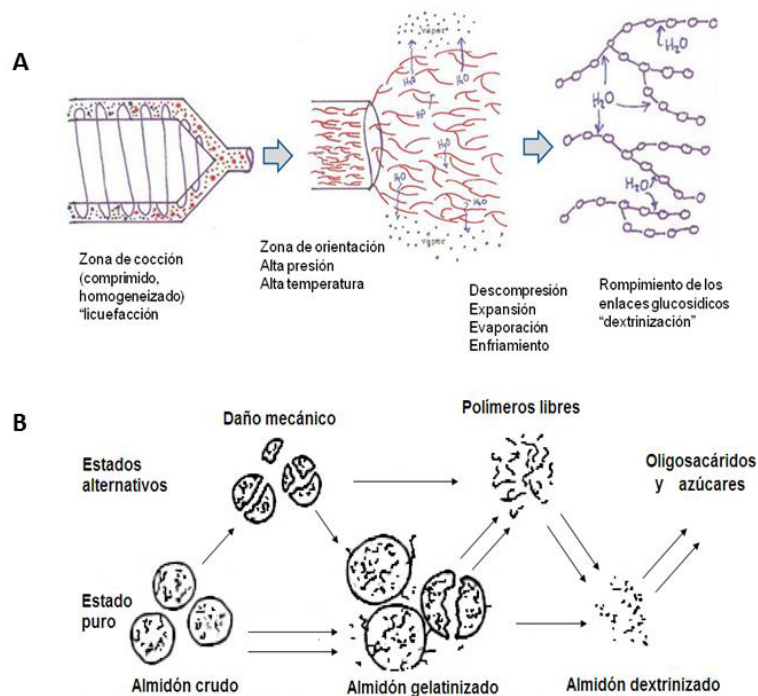


Figura 7. Modelo propuesto de la degradación del almidón durante la extrusión A (Harper, 1989), B (Gómez and Aguilera, 1984).

2.4.4 Retrogradación

Es un proceso que ocurre cuando las cadenas de almidón gelatinizado se enfría lentamente (Figura 8), o se almacena por tiempos prolongados, las moléculas de amilosa, en su fase inicial, dos o más cadenas de almidón podrían formar un simple punto de unión el cual se desarrollan regiones más ampliamente ordenadas tienen suficiente tiempo para alinearse de tal forma que un número importante de puentes de hidrógeno pueden formarse entre cadenas paralelas adyacentes, eventualmente esto da a lugar a la formación de un orden cristalino (Eeringen et al., 1993) y se manifiesta por la formación de gel, el cual se va volviendo más opaco a medida que la retrogradación progresa volviéndose más rígido. La retrogradación afecta a la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos amiláceos: consiste de dos procesos a) gelificación de las moléculas de amilosa exudadas del gránulo durante la gelatinización y b) recristalización de la amilopectina (Sandoval et al., 2004). Ambos procesos son complejos y dependen de muchos factores, como el tipo y concentración de almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento, pH y la presencia de solutos como lípidos, sales y azúcares (Haralampu, 2000; Perera et al., 2010)

En consecuencia, en la mayoría de los casos, dependiendo de las condiciones de transformación como geometría de tornillo, temperatura de proceso o el contenido de humedad, se puede dar forma al almidón resistente. El AR durante la transformación sufre procesamientos termomecánicos, modificaciones estructurales como la fusión de los granos, fragmentación de gránulo y despolimerización. El grado de transformación de almidón, es controlado mediante el ajuste de las condiciones de extrusión, además depende del almidón origen y otros componentes presentes como las proteínas o fibras (Chanvrier et al., 2007).

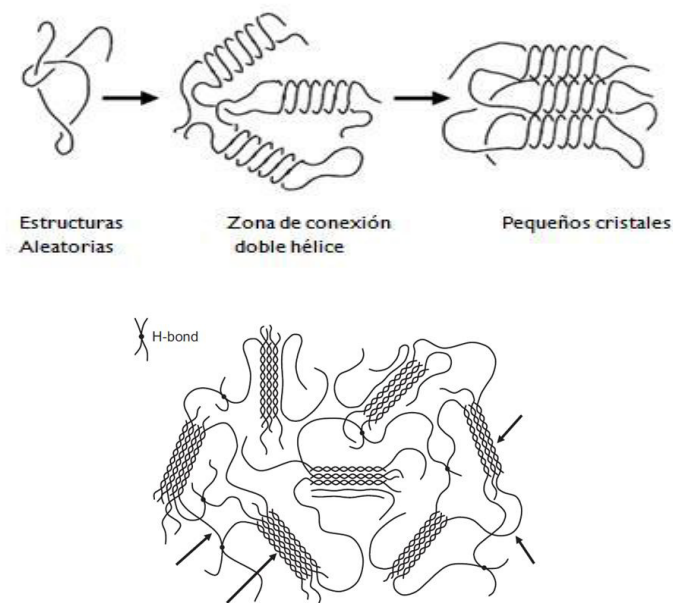


Figura 8. Representación de proceso de retrogradación (Haralampu, 2000).

2.4.4.1 Ventajas de la extrusión

A través de la tecnología de extrusión cocción, es posible manufacturar y/o modificar una amplia variedad de productos así como ingredientes para los alimentos como botanas a base de cereales, almidones modificados (AR), cereales para desayuno, alimentos para animales, productos dietéticos y bebidas (Dust et al., 2004; Hagenimana et al., 2006), con un grado de versatilidad, con disminución de tiempos de proceso, con ahorros de energía, con alta capacidad de producción por unidad de área y ausencia de efluentes o contaminantes. Gracias a estos procesos se pueden obtener almidones modificados y uno que es de gran interés por las tendencias actuales por sus características en el beneficio de la salud es el almidón resistente.

2.5 Almidón resistente (AR)

Existe el llamado almidón resistente o la porción de almidón y productos amiláceos resistentes a la digestión al pasan por el tracto gastrointestinal. Existen varios 4 tipos de AR. En la actualidad, estos son en su mayoría

definidos de acuerdo con las características físicas y químicas (Nugent, 2005). Este almidón es la fracción que no es hidrolizado a *D*-glucosa en el intestino después de 120 minutos de ser consumido, pero fermenta en el colon como un sustituto para microflora que existe en el intestino delgado (Rahman et al., 2007). El AR es una molécula lineal de α -1, 4-*D*-glucano, esencialmente derivado de la fracción retrogradada de amilosa y tiene un peso molecular relativamente bajo de $1,2 \times 10^5$ Da (Haralampu. 2000).

En comparación con fibras tradicionales, tales como cereales integrales, salvado o fibras de frutas, los AR poseen la ventaja ya que afectan menos a las propiedades organolépticas de los productos finales, dando aceptabilidad al consumidor y proporcionando mejores propiedades tecnológicas y mejora en aspecto de textura y sabor. Una amplia gama de alimentos se han formulado con AR incluyendo pan, pasteles, magdalenas, pastas y alimentos maltratados (Haralampu. 2000; Nugent. 2005) con una mejora en las propiedades de textura y apariencia en general.

2.5.1 Tipos de almidón resistente

El almidón resistente (AR) ha sido clasificado en cuatro subtipos generales llamado, los tipos naturales de AR con frecuencia son destruidos cuando se procesan. El almidón resistente tipo 1 (AR-1) y tipo 2 (AR-2) representan residuos de almidón, que son digeridos muy lentamente y de forma incompleta en el intestino. El AR-1 es el término dado cuando el almidón es físicamente inaccesible para la digestión, por ejemplo, debido a la presencia de paredes de células intactas en granos, semillas o tubérculos, el AR-1 es estable al calor en las operaciones de cocción normales, lo que permite su uso como ingrediente, en una amplia gama de alimentos convencionales.

Los almidones resistentes tipo 2 son nativos, gránulos de almidón sin cocer como papas crudas o almidón de plátano, cuya cristalinidad hace de ellos poco sensibles a la hidrólisis, por la conformación o estructura del gránulo de almidón. Esta estructura compacta limita la accesibilidad de las enzimas

digestivas y representa la naturaleza resistente de este almidón. Ejemplos de este son: almidón de maíz sin gelatinizar llamado almidón de maíz alto en amilosa o almidón crudo consumido en alimentos como plátano verde, que conserva su estructura y su resistencia incluso durante el procesamiento térmico y la preparación de muchos alimentos (Sajilata et al., 2006).

El almidón resistente tipo 3 se refiere a materiales no granulares derivados de almidón que se oponen a digestión. El AR-3 generalmente se forma durante la retrogradación de gránulos de almidón, son almidones degradados formados cuando los gránulos de almidón se destruyen por calentamiento en un exceso de agua en un proceso conocido como gelatinización, que deja a las moléculas completamente accesibles a las enzimas digestivas. Sin embargo, si estos geles de almidón son luego enfriados, forman cristales que son resistentes a la digestión de las enzimas. Este tipo de almidón se conoce como “retrogradado, la mayoría de alimentos para refrigeración, contienen algunos almidones de este tipo. Los AR-3 son de interés, debido a su estabilidad térmica, durante las operaciones de cocción y permite su uso como ingrediente en una amplia variedad de alimentos convencionales (Hernández et al. 2008, Sajilata et al. 2006).

Una representación esquemática del almidón del AR-3 formada en soluciones acuosas de amilosa se ejemplifica: (1) Modelo de Micelas en donde las dobles hélices de las cadenas están ordenadas en una estructura cristalina sobre una región particular de la cadena, intercaladas con las regiones amorfas en los extremos susceptibles a la degradación por las enzimas digestivas. (2) Modelo de Laminilla en el cual las estructuras laminares de las regiones cristalinas se forman mediante el doblamiento de las cadenas del polímero, las zonas del pliegue son amorfas, mientras que el centro de la lámina es cristalina menos propensa a la degradación.

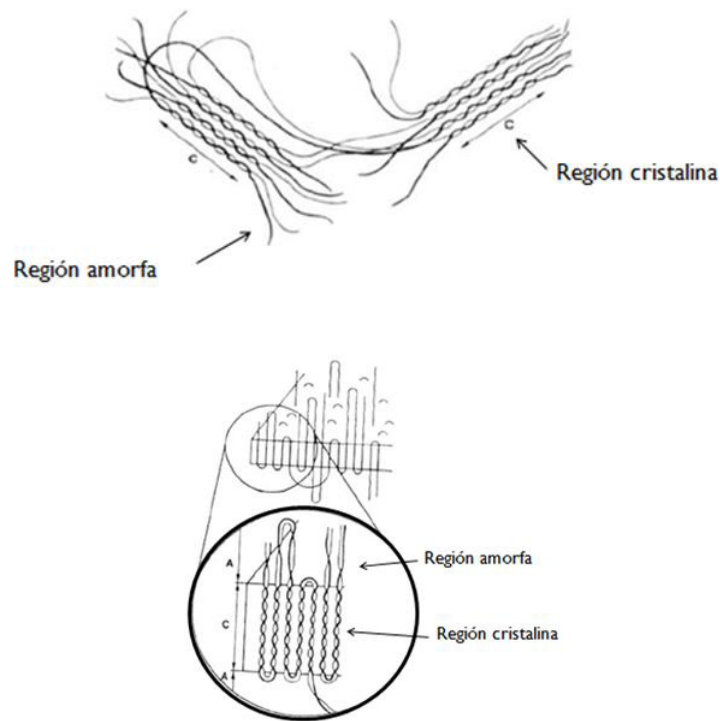


Figura 9. Modelo de micelas y laminillas (Sajilata et al., 2006).

El procesamiento de alimentos, que incluyen el calor y la humedad, en la mayoría de los casos destruye AR-1 y AR-2 pero pueden formar AR-3 que ha mostrado una mayor capacidad de absorción de agua que el almidón granular, algunos ejemplos son las papas cocidas y refrigerados y hojuelas de maíz.

Además de los tres tipos principales de AR, el almidón químicamente modificado ha sido definido como tipo 4 (AR-4), poseen resistencia similar a los oligosacáridos y povidexosa. Este almidón describe un grupo de almidones que han sido modificados químicamente e incluyen almidones que han sido esterificados o han cambiado sus enlaces mediante productos químicos de forma que disminuya su digestibilidad. El AR-4 puede ser producido por modificaciones químicas, como la conversión, sustitución o reticulación, que pueden impedir su digestión por bloqueando el acceso a la enzimas a los

enlaces α (1-4) y α (1-6) (Nugent, 2005). El grado y la calidad de AR formado depende de las propiedades intrínsecas del almidón relación (amilosa / amilopectina), el tamaño molecular de la amilosa, estructura molecular de amilopectina, condiciones de gelatinización (concentración de almidón, temperatura de gelatinización y el tiempo), además de las condiciones de almacenamiento, pH, contenido de humedad, número de ciclos de calentamiento-enfriamiento (Kumari et al., 2007; Wandee et al., 2011).

2.6 El papel de la fibra dietética en la dieta

El papel de la fibra dietética en la nutrición y salud humana ha cobrado importancia en los últimos años debido no sólo a su efecto benéfico en la motilidad intestinal, sino también en los efectos protectores contra enfermedades crónicas como hiper-glucemia, obesidad, cáncer de colon o infartos. La fibra dietaria son los componentes endógenos de los materiales de plantas en la dieta que son resistentes a la digestión enzimática humana (Sing et al., 2007). Está básicamente formada por lignina, celulosa y sustancias relacionadas a la hidrólisis o digestión por medio de las enzimas alimentarias del humano (AACC, 2001). No todas las formas de almidón son biodisponibles y fácilmente absorbibles. A esta pequeña fracción no digerible se conoce como 'almidón resistente AR que junto con la fibra dietética insoluble y soluble es fermentado en el colon por la flora microbiana dando importantes beneficios en la salud humana, el AR es considerado fibra insoluble (AACC, 2001) con sus mismos beneficios, debido a que cumple las características señaladas anteriormente. En la dieta humana existen fuentes importantes de este tipo de fibra, como los cereales integrales, el centeno y los productos derivados del arroz. Estas moléculas son escasamente degradadas por la acción de las enzimas del tracto gastrointestinal, la cantidad y composición varía de un alimento a otro (Desmedt y Jacobs, 2001). Desde el punto de vista nutricional, se considera apropiado clasificar y organizar a las fibras alimentarias o dietéticas según su comportamiento en medio acuoso.

2.6.1 Clasificación

La fibra dietética puede clasificarse de acuerdo a su solubilidad en agua como solubles e insolubles. Sus propiedades y efectos fisiológicos están determinados principalmente por las proporciones que guardan estas dos fracciones (Dhingra et al., 2012). La fibra soluble forma una dispersión en agua; la cual conlleva a la formación de geles viscosos en el tracto gastrointestinal, presentando la propiedad de retardar la evacuación gástrica. En algunos casos, puede ser saludable, haciendo más eficiente la digestión y absorción de alimentos y generando mayor saciedad. Este tipo de fibra es altamente fermentable y se asocia con el metabolismo de carbohidratos y lípidos (AACC, 2001, Sherma et al., 2008). La fibra insoluble aumenta el volumen de las heces hasta 20 veces su peso, debido a su capacidad de retención de agua, se relaciona con la protección y alivio de algunos trastornos digestivos como estreñimiento, está compuesto de celulosa, hemicelulosas y ligninas (Rodríguez et al., 2006; Sherma et al., 2008). Entre los principales tipos de fibra dietaría se pueden encontrar las gomas, pectinas, inulinas, arabinosilanos, arabinogalactanos, oligosacáridos principalmente (AACC, 2001).

2.6.2 Funciones y beneficios de la fibra dietaría

La fibra dietaría puede reducir el apetito, ligando agua y se convierte en gel durante la digestión, atrapando carbohidratos, produciendo una lenta absorción de la glucosa, reduciendo la variación en los niveles de azúcar en la sangre), reduce el colesterol total disminuyendo el riesgo de enfermedades del corazón, regula la presión arterial (Puede reducir el riesgo de aparición o síntomas del síndrome metabólico y diabetes), Agiliza el paso de los alimentos a través del sistema digestivo (Facilita la regularidad), añade volumen a las heces fecales (Alivia el estreñimiento), regula el pH intestinal y estimula la fermentación intestinal para la producción de ácidos grasos de cadena corta, reduciendo el riesgo de cáncer de colon (AACC, 2001; Dhingra et al., 2012).

2.6.2.1 Acción sobre triglicéridos y colesterol

Los efectos fisiológicos sobre el metabolismo del colesterol no se conocen con exactitud. Se sabe que la primera acción de la fibra soluble tiene lugar en la luz intestinal, actuando principalmente sobre la capacidad de la fibra para unirse a los ácidos biliares, formando micelas y aumentando la excreción de los mismos, además puede formar una fina capa en la luz intestinal, actuando como barrera física disminuyendo la reabsorción de grasas, incluyendo colesterol y ácidos biliares (Belobrajdic et al., 2012; Fernández et al., 2000; Perera et al., 2010).

2.6.2.2 Control de la diabetes

El consumo de fibra dietaría en el consumo diario ayuda a la disminución de la glucosa postprandial y al aumento de la sensibilidad a la insulina, ya que retrasa el paso del alimento desde el estómago al duodeno y aumenta la viscosidad del contenido intestinal, lo que sobrelleva un mayor tiempo de tránsito intestinal y por ende, en la absorción de carbohidratos, disminuyendo la glucosa postprandial y la respuesta de insulina. Como la Fibra dietaría suele tener un bajo índice glucémico, también contribuye al menor aumento de glucosa postprandial y de demanda de insulina (Brites et al., 2011; Charrier et al., 2013; Dundar and Gocmen, 2013; Englyst et al., 1996; Faraj et al., 2004; Rodríguez et al., 2006)

2.7 Digestión del almidón en el ser humano

Como se describió anteriormente, el concepto de AR se basa en la incapacidad de enzimas digestivas de hidrolizar el almidón en alimentos, el proceso de la digestión se muestra en la Figura 10. La digestión del almidón en los seres humanos inicia en las glándulas salivales encontradas en la cavidad oral las cuales producen diversas enzimas que inician la digestión de los carbohidratos, por ejemplo, α -amilasa, glucosa oxidasa, lactato deshidrogenasa y β -glucosidasa.

Los alimentos masticados y parcialmente hidrolizados en la boca pasa a través de la faringe pasando por el esófago y por ultimo al estómago. Glándulas submucosas del esófago secretan bicarbonatos y mucina, esto es considerado como un mecanismo para proteger el esófago del reflujo del HCl producido en el estómago. Una vez en este la comida es mezclada con pepsina, lipasa gástrica y HCl, el cual activa la pepsina, no se lleva a cabo una digestión significativa del almidón en el estómago pero la contracción de los músculos facilita la trituración de los alimentos. Una vez triturados los alimentos pasan al intestino delgado, a este alimento se denominan 'quimo' que es mezclado con bicarbonatos y mucina secretada por las glándulas de Brunner del intestino delgado (DeSesso and Jacobson, 2001; Perera et al., 2010)

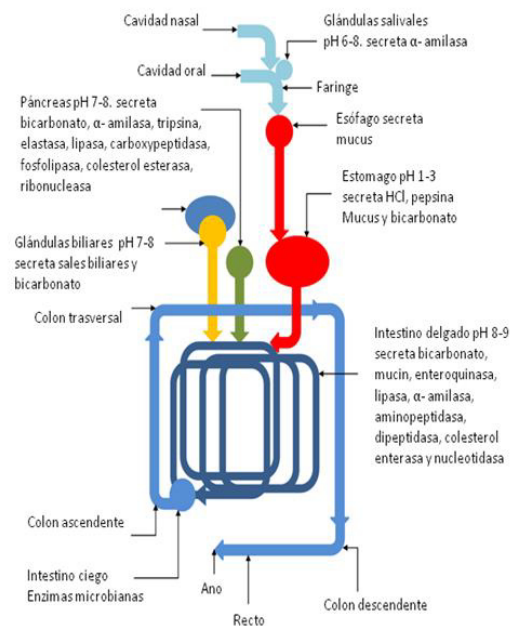


Figura 10. Representación del sistema digestivo (Perera et al., 2010).

En el duodeno, la primera parte del intestino delgado, el quimo se mezcla con la bilis secretada por la vesícula biliar, donde la α -amilasa pancreática y otras enzimas segregadas por las células epiteliales del intestino delgado, tales como sacrasa, maltasa y lactasa, responsables de la hidrólisis de carbohidratos. Además, de las enzimas proteolíticas como tripsina, quimotripsina,

carboxipeptidasa y elastasa, enzimas lipolíticas como lipasas, fosfolipasas y esterasa colesterol, son mezcladas con el quimo.

El quimo que no es hidrolizado en moléculas absorbibles en el intestino (almidón no digerido, junto con polisacáridos no amiláceos), se trasladan y son fermentados por bacterias en el colon (DeSesso and Jacobson, 2001). Las cadenas cortas resultantes de los ácidos grasos son absorbidas en el colon y proporcionan el 5% del requerimiento de energía de los seres humanos. Aproximadamente entre el 80-90% del AR pasa al colon humano y es fermentado, el resto es eliminado con las heces. Variaciones en las poblaciones microbianas del colon pueden influir significativamente el grado de fermentación de los AR, la presencia de la AR en la dieta disminuye considerablemente la fermentación bacteriana de polisacáridos no amiláceos, mejorando el grueso de los excrementos y la capacidad de retención de agua (Perera et al., 2010), como un ingrediente alimentario, AR tiene un valor calórico 8 kJ/g menor en comparación con almidón totalmente digerible 15 kJ/g (Nugent, 2005; Rochfort and Panozzo, 2007).

2.7.1 La rata como modelo para la digestión del almidón en los seres humanos

Los modelos de animales se han utilizado en algunos estudios de investigación. Estos modelos pueden ser análogos u homólogos para considerar la anatomía y fisiología del sistema humano. En el estudio los criterios a incluir es la disponibilidad del número de animales, su fácil de manipulación, que sean adaptables con los recursos disponibles y la esperanza de vida debe ser suficientemente largo para el estudio. Tomando en cuenta los anterior, omnívoros como la rata y el cerdo se pueden utilizar para simular el tracto gastrointestinal y las funciones hepáticas en los seres humanos. Comparando diferencias y similitudes entre tractos gastrointestinales de ratas y humanos. En la faringe humana existe en un solo tubo, el cual es el pasadizo entre los alimentos y aire, mientras que la faringe de las rata se divide en dos compartimientos uno para la respiración y el otro para efectos digestivos. Otro

órgano es el estómago humano que solo contiene una cámara donde los alimentos se mezclan con el ácido y enzimas. Para el estómago de la rata, aunque también existe una única cámara, está dividida en dos zonas. La primera es donde se realiza la digestión bacteriana mientras que las glándulas estomacales segregan enzimas y ácido, la digestión bacteriana está ausente en el estómago del ser humano.

Aunque la rata es utilizada para imitar la digestión humana hay la probabilidad de diferencias entre las especies debido a la actividad enzimática.

El intestino delgado tiene tres regiones funcionalmente diferentes, el duodeno, yeyuno e íleon, en comparación con los humanos, donde la vesícula biliar segrega bilis, el hígado de ratas segrega el doble de bilis dentro del duodeno por kilogramo de peso del animal por día (Perera et al., 2010).

La absorción de los nutrientes se lleva a cabo en el duodeno y yeyuno de las ratas mientras que en los seres humanos a través de la difusión, transporte activo y mecanismos de arrastre, en comparación con la longitud total de la aparato digestivo, el yeyuno de la rata es proporcionalmente más largo que en los humanos. El yeyuno de la rata representa el 90% de la longitud el intestino y en los humanos, el 38%. El tiempo de tránsito de los alimentos a través del intestino delgado en las ratas es más que es lento en los humanos. A pesar que el intestino humano es 5.5 veces más largo que el de la rata, el tiempo de tránsito de los alimentos por el intestino delgado de los humanos y la rata es similar 3-4 horas (DeSesso and Jacobson, 2001). El área de superficie del intestino delgado del ser humano es 200 veces mayor que la de la rata, lo cual da significancia, en sus longitudes. El agua y nutrientes formados a través del metabolismo bacteriano se absorben en el intestino grueso. El intestino grueso humano se divide en ciego, colon ascendente, colon transversal, colon descendente, colon sigmoide, recto y el ano.

El colon sigmoide es ausente en la rata. El ciego es el responsable de la mayor parte de la digestión microbiana de los alimentos en la rata y representa hasta

un 26% de la longitud del intestino grueso. Por el contrario, el ciego en el humano representa sólo el 5% de la longitud del intestino grueso. Además, los tipos de microorganismos presentes naturalmente en el sistema digestivo del ser humano y la rata puede ser diferente, las diferencias descritas anteriormente indican que el modelo de rata no puede proporcionar datos fiables sobre la digestión de AR en los seres humanos, pero puede ser útil para comprender lo que ocurre en el del ser humano (DeSesso and Jacobson, 2001)

2.7.2 Beneficios a la salud

El almidón no digerible o AR es fermentado por microorganismos en el intestino grueso para producir ácidos grasos de cadena corta, incluyendo acetato, propionato y butirato. Se informó que el butirato aumenta el nivel de glutatión, un antioxidante en la mucosa del colon que mejorar la resistencia del colon a agentes tóxicos en la dieta (Belobrajdic et al., 2012; Nugent, 2005), además el butirato es uno de los sustratos principales de energía para las células epiteliales del intestino grueso ya que estas inhiben las modificaciones malignas de las células, este puede tener un efecto en el crecimiento y la proliferación de tumores (Sajilata et al., 2006)

Además existe una disminución significativa en los ácidos biliares (ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido litocólico) y esteroides totales (coprostanol, colesterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol) en las heces después de consumir los AR, ya que la materia fecal de los pacientes de cáncer de colon lleva más ácidos biliares y esteroides neutrales que hace que los controles sanos esto tiene un efecto positivo en el control y la prevención de la cáncer de colon (Morand et al. 1994, Hylla et al. 1998). Una dieta rica en fibra dietética y AR aumenta significativamente el peso del páncreas, hígado y la longitud del intestino, El efecto hipoglucemiante (IG) del almidón en alimentos puede depender de varios factores como la proporción de amilosa y amilopectina, el entorno nativo del gránulo de almidón, la gelatinización del almidón, su contenido de agua y la temperatura cocción de los alimentos procesados. Así, los factores que afectan los valores de IG están en relación con la formación del

AR, así, los alimentos que contienen AR reducen la tasa de digestión ayudando a la liberación controlada de glucosa y por lo tanto, una respuesta de insulina baja con mayor acceso a la utilización de grasa almacenada en el cuerpo, esto es claramente importante para la diabetes (Martínez-Flores et al., 2004; Sajilata et al., 2006; Srikaeo and Sangkhiaw, 2014). El AR debe ser por lo menos el 14% de la ingesta total de almidón a fin de conferir beneficios para las respuestas glicémicas y de insulina (Belobrajdic et al. 2012). El almidón resistente puede actuar como prebiótico. Estos son ingredientes alimentarios no digeribles que afectan el huésped estimulando selectivamente el crecimiento o actividad de uno o más bacterias (probióticos) en el tracto gastrointestinal y así ejercer un efecto de promoción de la salud (Landon et al. 2012, Nugent, 2005).

Son típicos de prebióticos inulina y oligofructosa, ambos naturalmente presentes en un número de frutas y verduras (por ejemplo, plátanos, achicoria, cebollas, ajo y puerros), diversos estudios experimentales han revelado un cambio dependiente del tiempo en el grueso de las heces fecales en el intestino, lo que sugiere la posible interacción de la AR con la ingesta bacteriana (Topping et al. 2003). También ha sugerido para promover el crecimiento de estos microorganismos beneficiosos como *Bifidobacterium*, como casi en su totalidad el AR pasa a través del intestino delgado, puede comportarse como un sustrato de crecimiento para microorganismos probióticos (Haralampu, 2000; Sajilata et al., 2006).

Los AR parecen particularmente afectar el metabolismo de los lípidos, visto desde estudios en ratas, donde las reducciones en un número de medidas de lípidos se han observado metabolismo, estos incluyen los lípidos totales, colesterol, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de densidad intermedia, los triglicéridos y las lipoproteínas ricas en triglicéridos (Brites et al., 2011; Charrier et al., 2013; Fernández, et al., 2000; Martínez-Flores et al., 2004; Nugent, 2005).

Una dieta rica en AR puede aumentar la movilización y utilización de almacenes de grasas como consecuencia directa de una reducción de secreción de

insulina (Dhingra et al. 2012, Martínez-Flores et al. 2004, Srikaeo K and Sangkhiaw J. 2014). Pero el consumo de grandes cantidades de AR puede experimentar algunos efectos negativos en el rendimiento gastrointestinal, estos incluyen hinchazón, ruido debido al movimiento de gas en el intestino, flatulencia, cólicos y heces acuosas. Pero en general, los beneficios de la el consumo de AR se consideran superiores a cualquier malestar gastrointestinal (Dhingra et al. 2012).

Podemos ver de acuerdo a los antecedentes presentados que falta información útil y necesaria relacionada con los cambios físicos, químicos, térmicos y estructurales que le suceden al almidón al ser sometido a diversos procesamiento para la producción de almidón resistente AR, estos cambios se deben conocer al detalle para determinar las condiciones óptimas del proceso y con ello definir la mejor estrategia de producción de AR con las mejores características físicas y químicas, ya sea modificando las temperaturas de extrusión, contenidos de humedad, velocidades de extrusión, para así poder aplicar el AR generado en una matriz alimenticia y medir sus efectos en vivo en parámetros fisiológicos importantes, que proporcionen información adecuada para la formulación de alimentos con AR, que causen una disminución de glucosa, triglicéridos y colesterol en los consumidores de estos productos elaborados con AR.

III OBJETIVO

Evaluación de diversos tipos de procedimientos (hidrolisis ácida, extrusión y proceso hidrotermal) en la producción de almidón resistente (AR) para su aplicación en un producto con efecto hipoglucemiante

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las condiciones óptimas de procesamiento de los diversos procesos (hidrólisis ácida, extrusión-cocción y proceso hidrotérmico)
- Determinar la cantidad de almidón resistente (AR) obtenido después de los diferentes procesos de obtención.
- Evaluar las propiedades físicas, químicas, viscoelásticas, térmicas y microestructurales de las harinas obtenidas.
- Evaluar el efecto del almidón resistente (AR) suministrado en la dieta en un modelo animal en los parámetros (aumento de peso, colesterol, triglicéridos y glucosa en sangre) durante el tiempo.

IV METODOLOGÍA

4.1 Materia prima

Para la realización de este estudio se empleó almidón nativo de maíz comprado en un mercado local (Monterrey, México), marca GPC®, USA. Este, se analizó para la humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra cruda y cenizas de acuerdo con los métodos AOAC 934.06, 920.52, 920.152, 945.16, 940.26 y 962.09, respectivamente (AOAC, 1998). Los carbohidratos se obtuvieron por diferencia. Además, índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA), almidón resistente (AR), la viscosidad aparente (η), viscosidad máxima, tasa de retrogradación (Breakdown), módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G''), relación de módulo de pérdida/ módulo de almacenamiento ($\tan \delta$), la entalpía (ΔH) y la temperatura de gelatinización (T_g) fueron determinadas.

4.2 Etapa 1

Almidón de maíz con un contenido inicial de humedad del 10% fue ajustado a 20, 25, 30, 35 y 40% de contenido de humedad, alimentado a un flujo másico de 7 Kg/h, procesado en un extrusor de doble tornillo escala piloto marca (BTSK-20/40, Bühler AG, Uzwil, Switzerland) de 600mm de longitud de tornillo (Figura 29), una relación de longitud y diámetro (L/D) = 20. El diámetro del dado fue de 4 mm, la configuración del tornillo fue seleccionado específicamente para crear altos niveles de esfuerzo cortante, la primera sección sólo contenía elementos de transporte, la siguiente sección contenía tanto elementos de transporte y de amasado. Por último, la sección de alta cizalladura contenía sección de transporte, transporte de reversa y elementos de amasando Cortés-Ceballos et al. (2015). Los productos extrudidos fueron secados inmediatamente en un horno de convección con flujo de aire a 50 °C por 8 horas hasta alcanzar una humedad entre 3.7 – 9.13 %. Los extrudados, se molieron en un molino de martillos (Pulvex model 200, México, D.F.) y tamizados a malla No. 80 (177 μ m) para ser almacenados en bolsas de plástico para su posterior análisis (EBS), otras almacenados a una temperatura de 4 °C por 114 horas en bolsas de

plástico para ser sometidas al mismo proceso de obtención de harina (EAS) el diagrama de proceso es mostrado en la Figura 29 (Anexo).

4.2.1 Diseño experimental y análisis estadístico

El proceso de extrusión se llevó a cabo mediante un diseño central compuesto de segundo orden de tres variables con cinco niveles (Tabla 2).

Tabla 2. Variables de proceso y niveles utilizados en el diseño experimental para la etapa 1.

Variables de proceso	Niveles				
	-2	-1	0	+1	+2
Temperatura de extrusión (°C)	90	100	110	120	130
Contenido de humedad (%)	20	25	30	35	40
Velocidad de tornillo (rpm)	200	240	280	320	360

Las variables de estudio fueron temperatura de extrusión (90, 100, 110, 120 y 130 °C), velocidad de tornillo (180, 240, 280, 320 y 360 rpm), y contenido de humedad (20, 25, 30, 35 y 40 %) estas húmedas se calcularon mediante la relación de alimentación de kg de materia seca (almidón de maíz) / kg de agua (Tabla 3). Los resultados se analizaron mediante la metodología de superficie de respuesta (Myers, 1971).

Tabla 3. Relación entre el contenido de humedad y la alimentación de agua dentro del extrusor.

Contenido de humedad (%)	Alimentación de agua en el extrusor (Kg/h)	kg agua/ kg material seca
20	2.1	0.25
25	3.4	0.33
30	4.9	0.42
35	6.7	0.54
40	8.8	0.67

La temperatura de extrusión, el contenido de humedad y velocidad de tornillo fueron las variables independientes. El modelo de segundo orden polinomial se muestra en la ecuación 1:

$$Y_i = b_0 + \sum_{j=1}^3 b_j X_j + \sum_{j=1}^3 b_{jj} X_j^2 + \sum_{j=1}^2 \sum_{k=j+1}^3 b_{jk} X_j X_k \quad (1)$$

Donde Y_i es la respuesta predicha, X_i y X_j son las variables de entradas y b_0 , b_i , b_{ii} , b_{ij} son los coeficientes de regresión del intercepto de los efectos lineales, efectos cuadráticos e interacciones respectivamente. El análisis de varianza, regresión y el análisis canónico para la naturaleza de la superficie de respuesta analizados en los Softwares Design Expert v. 6.01 (Stat-Ease Inc. 2001, Minneapolis, MN, USA) y Minitab Release 14.1 (Minitab Inc. State College, PA, USA). Las diferencias significativas se definieron como ($P < 0.05$).

Tabla 4. Diseño experimental para el proceso de extrusión etapa 1.

Tratamiento	Temperatura de extrusión (°C)	Contenido de humedad (%)	Velocidad de tornillo (rpm)
1	100	25	240
2	120	25	240
3	100	35	240
4	120	35	240
5	100	25	320
6	120	25	320
7	100	35	320
8	120	35	320
9	90	30	280
10	130	30	280
11	110	20	280
12	110	40	280
13	110	30	200
14	110	30	360
15	110	30	280
16	110	30	280
17	110	30	280
18	110	30	280
19	110	30	280
20	110	30	280

4.3 Etapa 2

El proceso de extrusión se llevó a cabo con las condiciones obtenidas de la optimización de la etapa 1 (temperatura fija de extrusión 127 °C y una velocidad de tornillo de 233 rpm) con una alimentación de 7 kg/h. El proceso de extrusión se llevó a cabo mediante un diseño central compuesto de dos variables con 5 niveles mostrados en la Tabla 5, se analizó para obtener 13 tratamientos para investigar las tendencias de AR, IAA, ISA y η .

Tabla 5. Variables de proceso y niveles utilizados en el diseño experimental para la etapa 2.

Variables de proceso	Niveles				
	-2	-1	0	+1	+2
Concentración de ácido cítrico (%)	0	1.5	5.2	8.8	10.3
Contenido de humedad (%)	20	25	30	35	40

El modelo de segundo orden se muestra en la ecuación 2, donde Y_i es la variable de respuesta para el experimento; X_1 es el valor del contenido de humedad para el experimento i ; X_2 es el porcentaje de ácido cítrico para el experimento i ; b_0 , b_1 , b_2 , b_{11} , b_{22} , b_{12} son coeficientes estimados.

$$Y_i = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{12} X_1 X_2 + \varepsilon_i \quad (2)$$

Las combinaciones de las variables se muestran en la Tabla 6. Los resultados se estudiaron con metodología de superficie de respuesta y fueron analizados usando JMP 3.1.2 y Design Expert v. 6.01 (Stat-Ease Inc, 2001). Las diferencias significativas se definieron como ($P < 0.05$).

Tabla 6. Diseño experimental para el proceso de extrusión etapa 2.

Tratamiento	Contenido de humedad (%)	Contenido de ácido cítrico (%)
1	20	1.5
2	30	1.5
3	20	8.8
4	30	8.8
5	18	5.2
6	32	5.2
7	25	0.0
8	25	10.3
9	25	5.2
10	25	5.2
11	25	5.2
12	25	5.2
13	25	5.2

4.4 Etapa 3

4.4.1 Proceso de hidrólisis química (AMCS)

En la tercera etapa se llevó a cabo una hidrólisis ácida del almidón nativo de maíz con tres tipos de ácidos (cítrico, fosfórico y clorhídrico), se llevó a cabo como lo reporta (Nasrin and Anal, 2014) todos a una concentración de 2 N en relación 1:1.5 (peso/volumen). Las mezclas se calentaron a 40 °C durante 3 h posteriormente el pH se ajustó a 6,5 con NaOH al 10%. Las muestras se lavaron adecuadamente con agua destilada para ser centrifugadas a 1000 rpm durante 5 min. Las muestras lavadas fueron secadas a 40 °C por 12 horas, finalmente molidas y tamizadas a malla No. 80 (177 µm Tyler Mentor, OH, EUA). Los almidones secos fueron empaquetados en bolsa de plástico y almacenados.

4.4.2 Proceso de extrusión (ECP)

Los almidones hidrolizados se sometieron a extrusión, en un extrusor de doble tornillo (Figura 32, Anexo II) marca Shandong Light M&E modelo LT32L, Mainland, China) a una alimentación de 7.15 kg/h, y una velocidad de tornillo de 220 rpm, a un contenido de humedad del 18%, manteniendo un control de la temperatura de la temperatura de las tres chaquetas del cañón hasta la salida del dado en 100 °C (Fitch-Vargas et al., 2016), empleando un dado con un tamaño de orificio de salida de 5 mm. EL diagrama de proceso de obtención de almidones modificados sometidos a extrusión se muestra en la figura 33

Los productos extrudidos fueron secados inmediatamente en un horno de convección con flujo de aire a 50 °C por 8 horas hasta alcanzar una humedad entre 3.7 – 9.13 %. Los extrudados, se molieron en un molino de martillos (Pulvex model 200, México, D.F.) y tamizados a malla No. 80 (177 µm Tyler Mentor, OH, EUA) y se dividieron, para estudiar el efecto del almacenamiento bajo las siguientes condiciones: 1) Una parte de las muestras se almacenaron en bolsas de plástico para su posterior análisis, 2) Otras muestras se almacenaros a una temperatura de 4 °C por 120 horas en bolsas de plástico

Posteriormente ambos extrudados, se secaron, molieron y analizaron de acuerdo al procedimiento descrito en la Figura 30 (Anexo).

4.4.3 Proceso de autoclave ACCS

El almidón hidrolizado sometido a proceso de autoclave utilizado en la etapa 3 se elaboró de acuerdo a (Dundar and Gocmen, 2013; Nasrin and Anal, 2014) en una relación 1 peso (almidón hidrolizado)/10 volumen (agua), la mezcla se gelatinizó a 85 °C por 30 min posteriormente se sometió a autoclave a 120 °C por 1h, la pasta de almidón se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se almacenó a 4 °C durante 24h, el ciclo de esterilización en autoclave y enfriamiento se repitió tres veces (Figura 33). La pasta fue secada a 50 °C por 8 h en un secador de aire, posteriormente tamizados a malla No. 80 (177 μ m Tyler Mentor, OH, EUA), finalmente el almidón fue almacenado en bolsa de plástico a temperatura ambiente hasta su análisis de índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción en agua (IAA), almidón resistente (AR), viscosidad máxima, Breakdown y un análisis microestructural (Figura 32) para evaluar cambios microestructurales.

4.4.4 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño completamente al azar, teniendo como tratamientos, Hidrolisis ácida, proceso de extrusión cocción y ciclos de autoclave y almacenamiento a baja temperatura. Los datos colectados de las características fisicoquímicas: índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción en agua (IAA), almidón resistente (AR), entalpía de gelatinización (ΔH), viscosidad máxima y Breakdown, fueron analizados mediante un análisis de variancia usando el software Minitab® versión 17.1.0 (2013 Minitab Inc.). Las medias se compararon con las pruebas de Tukey con un nivel de confianza de 0.05.

4.4.5 Mediciones fisicoquímicas

4.4.5.1 Fibra soluble, insoluble y dietaría

La determinación de fibra soluble, insoluble y dietaría se realizó mediante el kit enzimático (total dietary fiber assay kit, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) de acuerdo al método 991.43, AOAC (1998). 1 g de muestra se mezcló con 50 mL de solución amortiguadora de fosfato a pH de 6.0, posteriormente fue adicionado 0.1 mL de α -amilasa incubado a 95 °C durante 15 min, luego se ajustó el pH a 7.5 utilizando NaOH (0.275 N) para adicionar 0.1 mL de solución de proteasa (50 mg/mL, solución amortiguadora de fosfato pH de 6.0) incubando a 60 °C durante 30 min. Posteriormente el pH se ajustó a 4.5 con HCl (0.325 N) para adicionar 0.1 mL de amiloglucosidasa e incubar a 60 °C durante 30 min. La solución obtenida se filtró en un crisol poroso (40-60 μ m) a peso constante haciendo lavados con agua, luego el crisol fue secado a 105 °C (para coleccionar la fibra insoluble). En la solución restante (a) se añadió 4 veces el volumen de etanol al 95% para precipitar la fibra soluble dejando reposar toda la noche. La solución restante (a) se filtró en un crisol poroso (40-60 μ m) a peso constante, lavando con fracciones de etanol al 78%, etanol al 95% y acetona, finalmente el crisol fue secado a 105 °C (para coleccionar la fibra soluble). Los residuos de fibra insoluble como de fibra soluble se analizaron cenizas y proteínas, por método gravimétrico y Kjeldahl (AOAC, 1998), respectivamente. La muestra problema y el blanco se corrieron a la par. Los contenidos de fibra insoluble y soluble fueron calculados de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$\%FI = [Rm - Pm - Cm - (Rb - Pb - Cb)/Wm] \times 100 \quad (3)$$

$$\%FS = [Rm - Pm - Cm - (Rb - Pb - Cb)/Wm] \times 100 \quad (4)$$

Dónde: FI, es fibra insoluble, Rm es el residuo de la muestra, Pm es el peso de proteína de la muestra, Cm es el peso de la cenizas de la muestra, Rb es el residuo del blanco, Pb es el peso de la proteína del blanco, Cb es el peso de la cenizas del blanco, Wm es el peso de la muestra y FS es fibra soluble.

4.4.5.2 Índices de absorción en agua (IAA) y solubilidad en agua (ISA)

La determinación de los índices IAA y ASA se realizó por triplicado de acuerdo a Anderson et al., 1969), las muestras extrudidas fueron tamizadas a través de

mallas No. 80 (177 μm , Tyler Mentor, OH, EUA) Muestras (2.5 g) fueron dispersadas en 30 mL de agua destilada, con agitación a temperatura ambiente con reposo por 30 min a una temperatura de 30 °C. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 x g por 15 min (IEC Centra® CL3 Centrifuge Series). El sobrenadante se decantó y se evaporó hasta sequedad a 100 °C, el residuo fue pesado y expresado como g de sólidos/g de muestra seca y considerado como ISA. Después de decantar el sobrenadante, el sedimento remanente en el tubo, fue pesado y expresado como g de agua absorbida/g de muestra seca para obtener el IAA.

4.4.5.3 Almidón resistente (AR)

La determinación de almidón resistente (AR) se realizó por el método enzimático de acuerdo a Goñi et al. (1996), mediante el kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd. Co. Wicklow, Ireland), basado en el método 2002.02 de la AOAC (1998). Los resultados se expresaron en g de AR/100 g de muestra. Brevemente, por cada 100 mg de muestra, se añadió 4 mL de mezcla (α -amilasa pancreática, 10 mg/mL, y amiloglucosidasa, 3 U/mL) y se incubó en un baño de agua con agitación (VWR Shel Lab 1217) a 80 strokes/min durante 16 h. Después de la incubación, se añadieron 4 mL de etanol (99%) y la suspensión se agitó vigorosamente (detener la reacción), después se centrifugó a 1500 g durante 10 min. El sobrenadante se retiró cuidadosamente y se añadió 8 mL de etanol al 50% (v/v) al residuo, agitado vigorosamente esto fue seguido de nuevo por centrifugación y eliminación del sobrenadante. La etapa de lavado con etanol al 50% se repitió una vez. 2 mL de KOH 2M se añadió al residuo, con agitación suave en un baño de agua con hielo para disolver el residuo durante 20 min, al finalizar se agregó 8 mL de acetato de sodio (pH 3,8) y amiloglucosidasa (0,1 mL, 3,300 U/mL), Las muestras se incubaron en el baño de agua a 50 °C durante 30 min y se centrifugaron a 1500 g durante 10 min.

A 0,1 mL del sobrenadante se le adiciono 3 mL de glucosa oxidasa-peroxidasa-aminoantipirina (GOPOD,> 12.000 U/L de glucosa oxidasa;> 650 U/L de

peroxidasa; 0,4 mM 4-aminoantipyrin) la mezcla se incubó en el agua baño a 50 ° C durante 20 min. La absorbancia se midió usando un espectrofotómetro (Perkin Elmer LAMBDA 25 UV/Vis Systems, (Norwalk, CT, EUA) a 510 nm. Como blanco se utilizó acetato de sodio (0,1 M, pH 4,5) y glucosa (1 mg/mL en ácido benzoico 0,2%) como un estándar. La absorbancia medida fue calculada como % de almidón resistente (g AR/100g muestra) utilizando una ecuación del manual del kit. Los análisis se realizaron por triplicado, obteniéndose un valor medio y su desviación estándar.

4.4.5.4 Análisis térmico de almidón

La determinación de las temperaturas y entalpía de gelatinización se realizaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), de acuerdo con el método de Hasjim and Jane (2013). Esto se realizó en un equipo TA Instruments (DSC Q-2000, Crawley, UK). 3 mg de muestra se colocaron en las celdas de aluminio para DSC, y se les adicionó 10 µL de agua destilada, las celdas se sellaron y se mantuvieron en equilibrio por 1 h. Posteriormente se sometieron a un barrido con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min, desde 20 hasta 150 °C. Una celda vacía se usó como referencia para todas las mediciones. Como resultado se obtuvieron los termogramas en los cuales se observa una gráfica del flujo de calor (eje Y) contra la temperatura (eje X), estos se analizaron con el software Universal Analysis, para obtener la temperatura pico de gelatinización (T_p) y la entalpía de gelatinización (ΔH). Cada determinación se realizó por duplicado y se obtuvo un valor promedio para cada muestra.

4.4.5.5 Estudios reológicos.

Las propiedades reológicas se evaluaron utilizando un reómetro (TA Instruments AR 2000EX, Crawley, UK). El instrumento fue equipado con geometría de platos paralelos (40 mm de diámetro). Todas las mediciones se llevaron a cabo a 25 °C, con un tamaño de intervalo (gap) de 1000 µm. La suspensión de almidón se ajustó a un 10 % de sólidos.

La muestra fue cubierta por completo con el plato y el exceso de muestra fue eliminado. Todas las mediciones se llevaron a cabo a 25 ° C y un gap de 1000 micrones. Para determinar la región viscoelástica lineal, barridos de amplitud de deformación se llevaron a cabo de 0,1 a 5% en un valor de frecuencia de 1 Hz. Las muestras analizadas presentaron respuesta similar con 2% de deformación. El barrido de flujo se realizó a una velocidad de cizallamiento ($\dot{\gamma}$) de 0,1 a 15 1/s en relación con ello el esfuerzo de cizallamiento (σ) y velocidad de cizallamiento ($\dot{\gamma}$) para calcular la viscosidad aparente (η). Para cada muestra se calculó la viscosidad aparente utilizando el modelo de Herschel Bulkley a una velocidad de cizallamiento de 1 1/s (Rao, 2010).

$$\sigma = \sigma_0 + K_H(\dot{\gamma})^n \quad (5)$$

Dónde:

- σ = Esfuerzo de corte.
- σ_0 = Esfuerzo de fluencia.
- K_H = Índice de consistencia.
- $\dot{\gamma}$ = Velocidad de corte.
- n = Índice de comportamiento de flujo.

Los análisis oscilatorios se realizaron a 25 ° C en un rango de frecuencia de 0,1 a 100 Hz, con un porcentaje de deformación de 2%, en la región viscoelástica lineal para todas las muestras. La comparación entre tratamientos se realizó a 2,51 Hz (Figura 35) donde $\Delta \tan$ presentó un comportamiento constante (Mendez-Montealvo et al., 2006; Wang et al., 1971). Usando el enfoque anterior, fue posible determinar el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G''), y $\delta \tan$ (es decir, G''/G').

4.4.5.6 Viscosidad (RVA)

La determinación de viscosidad se realizó utilizando el equipo Rapid Visco Analyser, modelo RVA 4500 (Perten Instruments, Hägersten, Sweden). Se prepararon suspensiones pesando 4 ± 0.01 g de harinas extruidas con un contenido de humedad de 4 - 4.5 % tamizados a malla No. 80 (177 μ m, Tyler,

Mentor, OH, EUA) en un recipiente RVA, e individualmente cada muestra se ajustó a un peso total de 28 g con agua destilada. La muestra se colocó en el equipo, el cual produce una agitación rápida durante 10 s, para luego estabilizarse a una velocidad constante de 160 rpm. Se utilizó un programa de tiempos y temperaturas de: 1 min a 50 °C, aumentando la temperatura hasta 92 °C, a una velocidad de 5.6 °C/min (7.5 min), permaneciendo 5 min a esa temperatura, y posteriormente disminuyendo la temperatura hasta 50 °C, a la misma velocidad usada durante el calentamiento, y permaneciendo a esta temperatura durante 1 min, sumando un tiempo total de prueba de 22 min. Durante esta prueba se monitoreó automáticamente la viscosidad de la suspensión en centipoises (*cp*) y la temperatura (°C) graficándolas contra el tiempo (min) transcurrido en la prueba. Como resultado se obtuvo una curva de viscosidad (Figura 34), donde se puede apreciar la temperatura y viscosidad inicial de gelatinización, temperatura de viscosidad máxima, pico de viscosidad (viscosidad máxima de gelatinización), y viscosidad de retrogradación (Breakdown) viscosidad de la pasta final del periodo de enfriamiento, menos la viscosidad de la pasta al inicio del mismo periodo. Las pruebas se hicieron por duplicado, obteniéndose un valor promedio.

4.4.5.7 Microscopia electrónica de barrido

El almidón de las harinas extrudidas fue examinado por microscopía electrónica de barrido. Las muestras con tamaño de partícula menor a 0.15 mm tamizadas a malla No. 100 (149 μm , Tyler Mentor, OH, EUA) y menos de 1% de humedad fueron montadas en cilindros conductores con cinta adhesiva de doble cara y recubiertas con una capa fina de oro, en un equipo Denton Vacuum Evaporator (Desk II, Moorestown, NJ, EUA), hasta alcanzar una presión de 1 lb/in^2 . Las imágenes fueron tomadas usando un microscopio de transmisión de electrones JSM-5800LV (JEOL, Akishima, Japan), con una magnificación de 350, 750 y 1500 veces del tamaño original de la muestra, para cada uno de los tratamientos.

4.4.5.8 Análisis de perfil de textura (TPA) en geles

El gel preparado con almidón de maíz, AMCS, ECP y ACCS (5 g / 30 ml de agua) se vertió en pequeños recipientes de vidrio y se almacenó a 4°C para producir gelificación. El gel formado en los recipientes se evaluó por sus propiedades texturales mediante análisis de perfil de textura (TPA) usando el analizador de textura TA / XT2 (Stable MicroSystems, Surrey, Inglaterra) se midió de acuerdo con el método descrito por Sandhu y Singh. (2007). Cada recipiente se colocó en posición vertical sobre la placa metálica y el gel se comprimió a una velocidad de 0,5 mm/s a una distancia de 10 mm con un émbolo cilíndrico (diámetro = 5 mm). La compresión se repitió dos veces para generar una curva fuerza-tiempo a partir de la cual se determinó la dureza (altura del primer pico) y la elasticidad (relación entre la altura recuperada después de la primera compresión y la altura original del gel). El área negativa de la curva durante la retracción de la sonda se denominó adhesividad. La cohesividad se calculó como la relación entre el área bajo el segundo pico y el área bajo el primer pico.

4.5 Etapa 4

Se llevó a cabo la evaluación en vivo (bioensayo) de dietas con y sin sustitución de almidón resistente en un modelo animal. En el bioensayo se utilizaron ratas albinas wistar recién destetadas de 1 mes de edad. Cada rata fue albergada en jaulas individuales bajo condiciones estándar (12:12h de luz/oscuridad, 23% de humedad relativa y una temperatura ambiente de 21°C dónde fueron alimentadas con 20 g diarios de alimento y agua *ad libitum* (Amaya, 2003) con las diferentes dietas. Este estudio se realizó en bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (Figura 36).

4.5.1 Formulación de dietas.

Se proporcionaron 3 diferentes dietas durante el bioensayo con ratas: un control positivo, a base de dieta de caseína y dos más con sustitución de almidón de maíz por almidón resistente, las formulaciones son mostradas en la Tabla 7.

Tabla 7. Ingredientes a utilizar para la elaboración de dietas basada en caseína (Bieri, 1980).

Ingrediente	Dieta Control (%)	Dieta 1 (%)	Dieta 2 (%)
Caseína	20.3	20.3	20.3
Almidón de maíz	50.0	0.0	0.0
Almidón resistente (13%)	0.0	50.0	65.2
Sacarosa	15.2	15.2	0.0
Aceite de maíz	5.0	5.0	5.0
Celulosa	5.0	5.0	5.0
Minerales AIN	3.5	3.5	3.5
Vitaminas AIN	1.0	1.0	1.0

4.5.2 Análisis proximal

Se analizó cada una de las dietas mostradas en la Tabla 7, para humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra cruda y cenizas de acuerdo con los métodos AOAC 1998. 934.06, 920.52, 920.152, 945.16, 940.26 y 962.09, respectivamente los carbohidratos se obtuvieron por diferencia. La Fibra soluble, insoluble y dietaría se determinó de acuerdo al método 991.43, AOAC (1998).

4.5.3 Determinación de energía metabolizable,

Se calculó la energía metabolizable de cada una de las dietas en base al contenido de carbohidratos solubles (ELN), proteína y grasa (extracto etéreo) mediante la siguiente fórmula:

$$EM = (\% \text{ ELN} * 4\text{Kcal/g}) + (\% \text{ proteína} * 4\text{Kcal/g}) + (\% \text{ extracto etéreo} * 9\text{Kcal/g}) \quad (5)$$

4.5.4 Glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre.

Se determinó la cantidad de glucosa libre, triglicéridos y colesterol en sangre durante el bioensayo con ratas antes mencionadas, se tomaron 4 mediciones una al inicio de la prueba además de una cada 15 días por un periodo de 45 días. Las muestras de sangre se obtuvieron por la vena de la cola (Bang et al., 2009), inmediatamente fueron leídas en un equipo un Accutrend ® Plus de la marca Roche el cual utiliza tiras reactivas para cada parámetro. Se realizó una toma de cada parámetro por rata.

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Etapa 1. Procesamiento de almidón de maíz sometido a extrusión-cocción.

5.1.1 Caracterización de materia prima

La composición proximal del almidón nativo de maíz utilizado en este estudio se presenta en la Tabla 8, Se observa que los porcentajes de humedad, cenizas, proteína y grasa fueron de 10.9, 0.03, 0.1, y 0.05% respectivamente, encentrándose dentro de los valores reportados por (Thiemeier et al., 2005), propiedades térmicas de acuerdo (Jongsutjarittam and Charoenrein, 2014 y Sánchez et al. 2013) y un contenido de AR para un almidón nativo de maíz.

Tabla 8. Composición química del almidón nativo de maíz.

Almidón nativo de maíz	Media \pm D.E
Contenido de humedad (%)	10.9 \pm 0.29
Proteína (%)	0.10 \pm 0.06
Grasa (%)	0.05 \pm 0.03
Cenizas (%)	0.03 \pm 0.01
Almidón resistente (g/100g)	0.67 \pm 0.022
Viscosidad aparente (Pa·s)	0.89 \pm 0.015
Módulo de almacenamiento (Pa)	0.50 \pm 0.02
Módulo de pérdida (Pa)	0.47 \pm 0.08
Relación módulo de pérdida / módulo de almacenamiento	0.87 \pm 0.08
Entalpía (J/g)	9.91 \pm 0.80
Temperatura de gelatinización (°C)	72.40 \pm 0.07
Índice de absorción de agua	1.80 \pm 0.01
Índice de solubilidad en agua	0.13 \pm 0.05
Viscosidad máxima (cP)	10.93 \pm 0.02
Breakdown (cP)	3.79 \pm 0.21

*valores presentados son el promedio de tres mediciones \pm desviación estándar (D.E.)

5.1.2 Ajuste de Modelos

Las influencias de la temperatura de extrusión, contenido de humedad y la velocidad del tornillo en las propiedades físicas y químicas del almidón de maíz

se muestran en las Tablas 9 a 11, respectivamente. El análisis de varianza para todas las respuestas indica un ajuste adecuado sin falta de ajuste, excepto para el contenido de RS y de la ISA del almidón extruido antes de su almacenamiento (EBS) (Tablas 12 y 14). Los coeficientes de regresión se obtuvieron por ajuste de los datos experimentales para el modelo de segundo orden (Tabla 5), y los modelos dieron valores de R^2 satisfactorios.

5.1.3 Índice de absorción de agua (IAA)

El IAA es un indicador de la capacidad de la harina para absorber el agua, que depende de la capacidad de los grupos hidrófilos de unir a las moléculas de agua y de la capacidad de las macromoléculas para formar un gel [González-Soto et al., 2007]. Los valores están en un rango de 2,7 a 6,8, más altos que la del almidón nativo (1,8). La velocidad del tornillo y el contenido de humedad afectaron significativamente ($P < 0.05$) la IAA de la EBS, mientras que la temperatura de extrusión y contenido de humedad, afectaron significativamente ($P < 0.05$) el IAA en el almidón extruido después del almacenamiento (EAS) (Tabla 4). La Figura 11a,b muestra los efectos de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad en el IAA de la EBS y EAS, respectivamente. La Figura 11a,b muestra los efectos de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad en IAA de EBS y EAS, respectivamente. El IAA de EBS a 106 ° C, a un contenido de humedad del 28.5% y una velocidad de tornillo de 249.5 rpm generó un valor máximo de 6.33, aumentos de temperatura de extrusión y contenido de humedad incrementan el IAA(Figura 11a). Los EAS mostraron una tendencia similar (Figura 1b), afectadas por el contenido de humedad y temperatura de extrusión (Tabla 36). El modelo ajustado mostró un valor máximo de IAA para EAS de 6.12 con 27.3% de contenido de humedad a 112 °C y 267.3 rpm, similar al IAA para EBS. Los cambios en el IAA de EBS y EAS se atribuyen principalmente a la temperatura de extrusión y el alto contenido de humedad, los cuales favorecen el mezclado en el extrusor, lo que aumenta el tamaño del gránulo de almidón hinchándolo y gelatinizándolo, favoreciendo la capacidad del almidón para absorber agua e incrementó de la viscosidad de

almidón (Wang et al., 2012). La Figura 11a, muestra que bajos contenidos de humedad el IAA fue influenciado por la temperatura, y a bajas temperaturas, la gelatinización del almidón fue minimizando generando poco daño a la estructura del almidón (Sarawong et al., 2014; Zhu et al., 2010). Mientras que temperaturas de extrusión elevadas, causan fusión de moléculas de amilopectina, generando mayor daño en el almidón (dextrinación y la destrucción de la estructura del almidón), y disminución de la IAA (Gonzalez-Soto et al., 2006 y Hagenimana et al., 2005).

5.1.4 Índice de solubilidad en agua (ISA)

El ISA, es un parámetro para medir la degradación del almidón, a bajos valores menor degradación de almidón lo que conlleva a un menor número de moléculas solubles en los productos extrudidos (Bhatnagar and Hanna, 1990; Hernández et al., 2007). La Figura 11c, muestra el ISA de EBS, indicando que los cambios en este componente resultan de los efectos del contenido de humedad y de la velocidad de tornillo, generando un valor mínimo de 2.13 a un contenido de humedad de 40.2% temperatura de extrusión de 110.3 °C y 348 rpm de velocidad de tornillo. Una disminución en el contenido de humedad causó un incremento en este parámetro. El ISA de EAS mostró tendencia similar a las EBS Figura 11d. Observándose, una mayor significancia por los efectos cuadráticos de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad.

Tabla 9. Características reológicas del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.

T	A	B	C	EBS				EAS			
				G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η
1	100	25	240	107.67 \pm 1.07	24.93 \pm 0.23	0.23 \pm 0.001	16.33 \pm 0.95	0.81 \pm 0.19	0.66 \pm 0.09	0.73 \pm 0.064	0.06 \pm 0.03
2	120	25	240	59.09 \pm 1.48	18.97 \pm 1.42	0.32 \pm 0.030	13.00 \pm 1.75	49.16 \pm 9.27	17.85 \pm 3.17	0.49 \pm 0.019	7.27 \pm 1.76
3	100	35	240	0.53 \pm 0.34	0.37 \pm 0.08	0.37 \pm 0.179	0.08 \pm 0.02	0.64 \pm 0.23	0.53 \pm 0.18	0.69 \pm 0.152	0.09 \pm 0.02
4	120	35	240	1.57 \pm 0.58	1.69 \pm 0.31	0.90 \pm 0.610	0.28 \pm 0.05	0.85 \pm 0.26	0.43 \pm 0.21	0.50 \pm 0.104	0.07 \pm 0.02
5	100	25	320	55.00 \pm 21.0	17.34 \pm 4.46	0.32 \pm 0.042	6.02 \pm 0.30	1.37 \pm 0.21	1.29 \pm 0.38	0.93 \pm 0.148	1.16 \pm 1.89
6	120	25	320	27.76 \pm 3.01	13.76 \pm 2.46	0.46 \pm 0.020	7.01 \pm 2.29	30.06 \pm 3.93	14.97 \pm 0.43	0.77 \pm 0.087	6.88 \pm 0.27
7	100	35	320	1.00 \pm 0.42	1.21 \pm 0.52	0.94 \pm 0.138	0.31 \pm 0.03	0.57 \pm 0.08	0.35 \pm 0.21	0.65 \pm 0.157	0.03 \pm 0.03
8	120	35	320	26.07 \pm 6.50	11.20 \pm 1.85	0.43 \pm 0.066	1.98 \pm 0.09	0.43 \pm 0.11	0.22 \pm 0.58	0.32 \pm 0.013	0.12 \pm 0.09
9	90	30	280	19.35 \pm 2.70	8.89 \pm 1.92	0.50 \pm 0.006	1.43 \pm 0.13	1.06 \pm 0.02	1.57 \pm 0.06	1.48 \pm 0.079	0.25 \pm 0.03
10	130	30	280	100.41 \pm 3.80	26.96 \pm 1.17	0.26 \pm 0.010	2.30 \pm 0.59	42.81 \pm 1.66	13.95 \pm 0.33	0.26 \pm 0.001	4.16 \pm 0.30
11	110	20	280	21.80 \pm 1.76	11.01 \pm 0.93	0.50 \pm 0.014	4.02 \pm 1.86	8.23 \pm 0.84	6.36 \pm 0.19	0.77 \pm 0.066	1.94 \pm 0.15
12	110	40	280	1.16 \pm 0.36	0.89 \pm 0.30	0.82 \pm 0.013	0.18 \pm 0.03	0.46 \pm 0.15	0.52 \pm 0.05	0.36 \pm 0.005	0.20 \pm 0.14
13	110	30	200	99.46 \pm 5.60	29.10 \pm 2.05	0.29 \pm 0.009	6.75 \pm 0.50	0.43 \pm 0.06	0.64 \pm 0.09	1.49 \pm 0.082	0.17 \pm 0.04
14	110	30	360	109.58 \pm 8.62	26.96 \pm 2.53	0.25 \pm 0.013	10.90 \pm 0.99	30.75 \pm 2.15	13.09 \pm 1.12	1.17 \pm 0.251	1.91 \pm 0.13
15	110	30	280	291.10 \pm 7.63	56.41 \pm 1.70	0.21 \pm 0.004	30.76 \pm 0.58	45.09 \pm 3.28	55.85 \pm 3.10	0.20 \pm 0.001	24.43 \pm 0.85
16	110	30	280	211.43 \pm 24.1	40.72 \pm 2.67	0.21 \pm 0.005	32.67 \pm 1.50	44.40 \pm 4.15	37.40 \pm 1.73	0.20 \pm 0.010	21.07 \pm 0.46
17	110	30	280	234.00 \pm 23.5	48.83 \pm 0.74	0.19 \pm 0.009	27.25 \pm 3.14	60.56 \pm 5.32	35.63 \pm 2.31	0.17 \pm 0.003	25.38 \pm 0.23
18	110	30	280	289.00 \pm 2.82	39.34 \pm 2.02	0.18 \pm 0.011	26.40 \pm 0.58	60.46 \pm 3.23	52.50 \pm 0.21	0.17 \pm 0.003	22.66 \pm 0.32
19	110	30	280	316.40 \pm 22.5	53.31 \pm 0.40	0.19 \pm 0.009	35.04 \pm 1.65	57.23 \pm 2.70	31.77 \pm 0.25	0.18 \pm 0.007	20.17 \pm 0.39
20	110	30	280	263.28 \pm 27.9	51.30 \pm 5.18	0.22 \pm 0.003	26.89 \pm 4.03	60.92 \pm 2.26	36.11 \pm 0.84	0.18 \pm 0.006	20.31 \pm 0.85

Los valores son promedio de tres mediciones \pm desviación estándar. T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C, G'= módulo de almacenamiento (Pa·s), G''= módulo de pérdida (Pa·s), tan δ = tangente, η = viscosidad aparente (Pa)

Tabla 10. Características fisicoquímicas del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso

T	A	B	C	EBS			EAS				
				IAA	ISA	RS	IAA	ISA	RS	H	Tg
1	100	25	240	5.54 ± 0.69	13.78 ± 1.68	0.60 ± 0.01	5.75 ± 0.31	10.96 ± 1.46	0.63 ± 0.06	0.59 ± 0.008	101.65 ± 0.89
2	120	25	240	4.90 ± 0.26	16.47 ± 2.10	0.54 ± 0.01	5.86 ± 0.08	14.23 ± 0.58	0.93 ± 0.04	0.06 ± 0.009	92.89 ± 1.31
3	100	35	240	4.41 ± 0.04	5.48 ± 0.23	0.64 ± 0.05	3.08 ± 0.33	4.78 ± 0.19	0.82 ± 0.01	0.43 ± 0.100	100.71 ± 1.55
4	120	35	240	4.90 ± 0.13	4.26 ± 0.67	0.56 ± 0.02	2.99 ± 0.12	4.11 ± 0.14	1.13 ± 0.02	0.46 ± 0.050	101.27 ± 0.23
5	100	25	320	4.74 ± 0.60	28.04 ± 4.52	0.68 ± 0.01	5.10 ± 0.16	13.71 ± 1.12	0.68 ± 0.01	0.69 ± 0.040	101.25 ± 0.28
6	120	25	320	4.42 ± 0.04	28.17 ± 1.88	0.57 ± 0.04	4.69 ± 0.16	20.11 ± 3.13	0.93 ± 0.02	0.01 ± 0.009	95.12 ± 0.74
7	100	35	320	4.77 ± 0.07	4.77 ± 0.20	0.63 ± 0.01	2.90 ± 0.20	2.90 ± 0.04	0.98 ± 0.01	0.79 ± 0.030	101.01 ± 0.95
8	120	35	320	5.40 ± 0.10	7.40 ± 0.65	0.58 ± 0.01	2.79 ± 0.33	5.14 ± 0.39	0.84 ± 0.03	0.08 ± 0.040	94.61 ± 0.36
9	90	30	280	6.02 ± 0.09	9.14 ± 0.40	0.49 ± 0.03	4.07 ± 0.01	6.20 ± 1.10	0.47 ± 0.01	0.92 ± 0.200	100.81 ± 0.79
10	130	30	280	4.56 ± 0.01	10.51 ± 0.21	0.50 ± 0.05	5.50 ± 0.02	10.47 ± 0.64	0.65 ± 0.02	0.38 ± 0.010	100.84 ± 0.91
11	110	20	280	4.37 ± 0.20	28.65 ± 1.58	0.79 ± 0.01	3.71 ± 0.20	17.54 ± 1.75	0.83 ± 0.01	0.01 ± 0.008	101.66 ± 0.33
12	110	40	280	4.12 ± 0.03	3.39 ± 0.70	0.68 ± 0.02	2.78 ± 0.21	4.67 ± 0.14	1.05 ± 0.02	0.53 ± 0.001	100.67 ± 1.91
13	110	30	200	6.45 ± 0.06	8.14 ± 0.78	0.50 ± 0.01	4.72 ± 0.06	3.96 ± 0.10	0.56 ± 0.02	0.39 ± 0.060	100.36 ± 1.23
14	110	30	360	5.77 ± 0.50	10.47 ± 0.21	0.49 ± 0.01	4.95 ± 0.06	6.19 ± 0.19	0.56 ± 0.03	0.38 ± 0.030	98.25 ± 1.05
15	110	30	280	6.76 ± 0.63	8.18 ± 0.14	0.31 ± 0.02	5.06 ± 0.23	4.46 ± 0.32	0.43 ± 0.01	0.21 ± 0.010	101.63 ± 0.14
16	110	30	280	6.21 ± 0.06	5.75 ± 1.76	0.40 ± 0.02	5.89 ± 0.27	4.85 ± 0.41	0.40 ± 0.04	0.26 ± 0.003	100.29 ± 0.60
17	110	30	280	6.52 ± 0.58	6.06 ± 0.90	0.38 ± 0.02	6.17 ± 0.28	6.14 ± 0.17	0.44 ± 0.01	0.24 ± 0.020	98.22 ± 0.28
18	110	30	280	6.29 ± 0.15	6.02 ± 1.12	0.42 ± 0.03	6.53 ± 0.16	8.73 ± 0.42	0.41 ± 0.01	0.39 ± 0.060	99.15 ± 0.49
19	110	30	280	6.12 ± 0.20	7.14 ± 0.13	0.39 ± 0.02	5.58 ± 0.31	5.24 ± 0.70	0.32 ± 0.01	0.35 ± 0.050	99.82 ± 0.53
20	110	30	280	6.93 ± 0.39	7.42 ± 0.26	0.32 ± 0.01	6.81 ± 0.05	8.11 ± 1.16	0.35 ± 0.01	0.32 ± 0.002	98.87 ± 0.27

Los valores son promedio de tres mediciones ± desviación estándar. T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C, IAA= índice de absorción en agua, ISA= índice de solubilidad en agua, AR= Almidón resistente, ΔH= entalpia de gelatinización, Tg= temperatura máxima.

Tabla 11. Características reológicas (RVA) del almidón nativo de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.

T	A	B	C	EBS		EAS	
				Viscosidad máxima	Breakdown	Viscosidad máxima	Breakdown
1	100	25	240	2316.50 ± 4.95	1905.00 ± 185.26	7792.50 ± 129.40	3157.50 ± 51.52
2	120	25	240	1199.50 ± 96.87	1077.00 ± 328.10	1227.00 ± 144.25	1772.00 ± 352.14
3	100	35	240	3295.50 ± 195.87	2611.50 ± 112.43	5094.50 ± 123.74	3470.00 ± 49.50
4	120	35	240	4271.00 ± 148.49	2337.00 ± 449.72	9296.50 ± 197.28	4536.50 ± 28.99
5	100	25	320	1078.00 ± 147.08	1411.00 ± 42.25	8264.50 ± 352.85	3291.50 ± 123.74
6	120	25	320	908.50 ± 139.30	783.50 ± 143.54	959.00 ± 52.33	1170.50 ± 12.02
7	100	35	320	3493.00 ± 223.45	2232.50 ± 234.05	10926.50 ± 210.01	3895.00 ± 115.97
8	120	35	320	4159.00 ± 9.90	2294.00 ± 70.71	8541.50 ± 144.96	6991.00 ± 115.97
9	90	30	280	2738.67 ± 130.11	2187.50 ± 391.03	6686.00 ± 223.45	1501.50 ± 161.92
10	130	30	280	2563.50 ± 135.06	2048.00 ± 5.66	3585.50 ± 284. 96	2200.00 ± 166.87
11	110	20	280	605.00 ± 123.04	898.50 ± 235.47	634.00 ± 7354	991.00 ± 39.59
12	110	40	280	6100.50 ± 347.19	3555.50 ± 495.68	7388.50 ± 119.50	5077.50 ± 21.92
13	110	30	200	3120.00 ± 32.53	1723.00 ± 282.84	6267.00 ± 49.50	2406.50 ± 119.50
14	110	30	360	2619.00 ± 268.7	1862.00 ± 134.35	3008.50 ± 429.21	1402.00 ± 260.21
15	110	30	280	2748.50 ± 136.47	1683.50 ± 170.41	5571.50 ± 514. 07	2255.00 ± 59.39
16	110	30	280	2569.50 ± 33.23	1319.50 ± 152.03	4551.50 ± 61.52	1743.50 ± 282.13
17	110	30	280	2522.00 ± 14.14	1515.00 ± 206.48	3196.50 ± 248.19	1286.00 ± 28.28
18	110	30	280	3293.50 ± 354.26	1708.50 ± 251. 05	3804.00 ± 356. 38	1774.50 ± 130.81
19	110	30	280	2616.00 ± 83.44	1502.50 ± 197.28	5647.00 ± 857. 01	2189.00 ±103.23
20	110	30	280	3446.00 ± 347.90	1763.00 ± 165.46	3362. 50 ± 358.50	1501.50 ± 161.03

Los valores son promedio de tres mediciones ± desviación estándar. T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C, viscosidad máxima (cP), Breakdown (cP).

Tabla 12. Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de almidón de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.

Fuente	GL	Características fisicoquímicas								Características reológicas							
		EBS				EAS				EBS				EAS			
		IAA	ISA	RS	IAA	ISA	RS	ΔH	Tg	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η
Modelo	9	1.41*	127.30*	0.030*	2.74*	44.84*	0.097*	0.12*	6.43	22390.78*	603.56*	0.10*	281.15*	1151.80*	620.72*	0.35*	195.44*
A	1	0.48	3.04	0.004	0.35	24.46	0.075	0.55*	26.72	789.77	82.14	0.021	28.27	1612.21	191.83	0.70*	27.09
B	1	0.024	827.28*	0.003	8.27	287.51*	0.068	0.13*	1.38	4278.16	407.39	0.33*	140.48	557.36	126.07	0.16	21.5
C	1	0.2	68.27*	5E-04	0.19	9.36	0.004	1E-05	4.78	94.09	2.85	0.0007	2.3	108.24	30.96	0.009	1.1
AB	1	0.54	0.25	2E-04	0.001	8.2	0.017	0.038	10.27	1298.74	54.3	0.38	2.22	740.65	120.85	0.001	20.65
AC	1	0.028	0.21	4E-05	0.036	4.57	0.03	0.1*	2.34	257.15	15.25	0.51	4.2	50.03	1.58	0.0003	0.24
BC	1	0.57	69.27*	0.001	0.26	11.21	0.004	5E-04	8.39	1484.3	66.89	0.29	41.58	40.73	0.43	0.60	0.063
A ²	1	3.15	27.45	0.034*	3.21*	11.73	0.1	0.19*	0.48	87001.11*	2015.96*	0.093	1002.05*	2254.50*	2215.74*	0.67*	749.61*
B ²	1	9.52*	169.13*	0.24*	13.86*	47.63*	0.64	0.001	1.26	126500*	3526.73*	0.042	1416.30*	4834.64*	2754.69*	0.19*	829.47*
C ²	1	0.56*	21.01	0.036*	2.99	0.43	0.11*	0.012	1.47	57122.64*	1005.44*	0.025*	852.73*	3073.96*	2323*	1.93*	831.64*
Residual	10	0.3	9.86	0.004	0.84	4.77	0.032	0.014	6.28	38113.3	123.83	0.26	36.37	182.98	105.05	0.025	13.15
Falta de ajuste	5	0.49	18.78*	0.007	1.28	6.38	0.062*	0.022*	11.1*	30418.4	200.15	0.052*	60.09	302.91	109.78	0.050*	21.47
Error	5	0.1	0.93	0.002	0.41	3.15	0.003	0.005	1.45	7694.92	47.6	0.0019	12.64	63.05	100.33	0.0002	4.83
R ²		0.81	0.92	0.85	0.75	0.84	0.73	0.91	0.47	0.84	0.81	0.78	0.87	0.85	0.84	0.92	0.93

*Significancia (P < 0.05). T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C, IAA= índice de absorción en agua, ISA= índice de solubilidad en agua, AR= Almidón resistente, ΔH = entalpia de gelatinización, Tg= temperatura máxima, G'= módulo de almacenamiento (Pa·s), G''= módulo de pérdida (Pa·s), tan δ = tangente, η = viscosidad aparente (Pa).

Tabla 13. Análisis de varianza de las características reológicas (RVA) de almidón de maíz extruido a diferentes condiciones de proceso.

F	GL	Cuadrados medios			
		EBS		EAS	
		Viscosidad	Retrogradación	Viscosidad máxima	Breakdown
Modelo	9	3.07 x 106*	8.20 x 105*	1.32 x 107*	3.71 x 106*
A	1	2.94 x 105	2.17 x 105	2.24 x 107	35910.25
B	1	2.50 x 107*	5.39 x 106*	5.20 x 107*	1.952 x 107*
C	1	2.63 x 105	2.14 x 105	95481	10150.56
AB	1	5.47 x 105	1.06 x 105	3.07 x 107	7.35 x 106
AC	1	1.67 x 105	34540.68	6.71 x 105	2.09 x 105
BC	1	7.50 x 105	58767.35	2.96 x 106	1.40 x 106
A ²	1	53515.55	4.83 x 105*	2.70 x 107	6.28 x 105
B ²	1	3.47 x 105	1.13 x 106*	1.98 x 105	4.71 x 106
C ²	1	56952.27	76341.31	1.51 x 106	5.71 x 105
Residual	10	1.62 x 105	60958.83	3.96 x 106	1.10 x 106
Falta de ajuste	5	2.05 x 105	62792.74	6.51 x 106	2.09 x 106
Error	5	1.20 x 105	59124.91	1.41 x 106	1.09 x 105*
R ²		0.94	0.92	0.75	0.75

*Significancia (P < 0.05). T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C

Tabla 14. Coeficiente de regresión del modelo de segundo orden de la relación entre la respuesta y la variable independiente de las características fisicoquímicas y reológicas de almidón de maíz extruido

Coeficiente	Características fisicoquímicas								Características reológicas							
	EBS			EAS					EBS				EAS			
	IAA	ISA	AR	IAA	ISA	AR	ΔH	Tg	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η
<i>b</i> 0	6.35*	7.32*	0.39*	6.35*	6.58*	0.44*	0.29*	99.35	253.71*	45.80*	-0.23*	28.69*	52.35*	39.66*	0.17*	21.48*
<i>b</i> 1	-0.17	0.44	-0.01	-0.17	1.24	0.06	-0.19*	-1.29	7.03	2.27	-0.036	1.33	10.04	3.46	-0.21*	1.3
<i>b</i> 2	-0.04	7.19*	-0.01	-0.03*	-4.74*	5E-04	0.09*	0.29	-16.35	-5.05	0.14*	-2.96*	-5.9	-2.81	-0.10*	-1.16
<i>b</i> 3	-0.11	2.07*	0.01	-0.11	0.76	-0.04	0	-0.55	-2.43	-0.36	-0.006	-0.38	2.6	1.39	-0.024	0.26
<i>b</i> 12	0.26	-0.18	5E-04	0.26	-1.01	-0.06	0.07	1.13	12.74	2.61	-0.069	0.53	-9.62	-3.89	-0.015	-1.61
<i>b</i> 13	0.06	0.16	-5E-04	0.06	0.76	-0.02	-0.11*	-0.54	5.67	1.38	-0.080	0.72	-2.5	-0.44	-0.006	-0.17
<i>b</i> 23	0.27	2.94*	-2E-04	0.27	-1.18	-0.02	-0.01	-1.02	13.62	2.89	-0.060	2.28	2.26	0.23	-0.087	-0.09
<i>b</i> 11	-0.35	1.04	0.04*	-0.35	0.68	0.06	0.09*	0.14	-58.82*	-8.96*	0.061	-6.31*	-9.47*	-9.39*	0.16*	-5.46*
<i>b</i> 22	-0.62*	2.59*	0.09*	-0.62*	1.38	0.16	-0.01	0.22	-70.92*	-11.84*	0.13*	-7.51*	-13.87*	-10.47*	0.086*	-5.74*
<i>b</i> 33	-0.15*	0.91	0.03*	-0.15	-0.13	0.06	0.02	-0.24	-47.66*	-6.32*	0.032	-5.82*	-11.06*	-9.61*	-5.68*	-5.75*

*Significancia ($P < 0.05$). T= tratamiento, A= temperatura de extrusión (°C), B= contenido de humedad (%), C= velocidad de tornillo (rpm), EBS=harinas extruidas antes del almacenamiento, EAS= harinas extruidas después del almacenamiento por 120 horas a 4°C, IAA= índice de absorción en agua, ISA= índice de solubilidad en agua, AR= Almidón resistente, ΔH = entalpia de gelatinización, Tg= temperatura máxima, G'= módulo de almacenamiento (Pa·s), G''= módulo de pérdida (Pa·s), tan δ = tangente, η = viscosidad aparente (Pa).

El modelo ajustado presenta un punto silla para EAS a un contenido de humedad de 70.97%, una temperatura de extrusión de 204.67 °C y una velocidad de tornillo de 283.47 rpm, incrementos del contenido de humedad causan reducción de este componente (Faraj et al., 2004; Agustiniano-Osornio et al., 2005; Masatcioglu et al., 2014). Esta tendencia presentada en la disminución del ISA a altas humedades se debe a la gelatinización parcial del almidón durante la extrusión que evita la liberación de componentes (Agustiano et al., 2005; Faraj et al., 2004; Masatcioglu et al., 2014). Los altos contenidos de humedad en la alimentación dentro del extrusor posiblemente actúan como lubricantes durante el transporte de sólidos a través del cañón, lo que minimiza el fenómeno de gelatinización del almidón y por lo tanto los cambios asociados en las propiedades reológicas y funcionales (ISA). Resultados similares han sido reportados por Bhattacharya et al. (1999). Los tratamientos bajo condiciones de baja humedad pueden restringir el flujo de material en el interior del cañón del extrusor, incrementando la fricción y viscosidad de la masa de almidón (Wang et al., 2012) combinado con altas temperaturas causan un aumento en la cantidad de gránulos de almidón degradados, llevando al aumento de la formación de productos solubles en agua (Rodríguez et al., 2012). Este fenómeno es conocido como dextrinación generando un incremento en el porcentaje de almidón gelatinizado (Jackson et al., 1990; Gonzales et al., 2007; Hagenimana et al., 2006; Sarawong et al., 2014; Zhu et al., 2010).

5.1.5 Propiedades viscoelásticas

En la Figura 12a y 12b se muestra el efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre la viscosidad aparente de EBS y EAS respectivamente. La viscosidad aparente está relacionada con la capacidad de absorber agua por lo que presenta una tendencia similar a las gráficas obtenidas en WAI. La temperatura de extrusión y el contenido de humedad ambas afectaron significativamente ($P < 0.05$) a la viscosidad aparente (η) de EBS y EAS. La viscosidad aparente se incrementó a un máximo de 31,36 Pa·s para EBS a un contenido de humedad de 28.46%, 113.52 °C y 271.8 rpm

(Figura 12a) y un máximo de 21.59 Pa·s para EAS a 29.16% de humedad, 112.77 °C y 278.58 rpm (Figura 12b) al aumentar la temperatura de extrusión y contenido de humedad. Los sucesivos aumentos o disminuciones en el contenido de humedad y la temperatura de extrusión reducen la η debido a la degradación del almidón durante el proceso de extrusión (Hagenimana et al., 2006; Hernandez-Diaz et al., 2007) o al bajo almidón gelatinizado (Sarawong et al., 2014; Zhu et al., 2010), respectivamente.

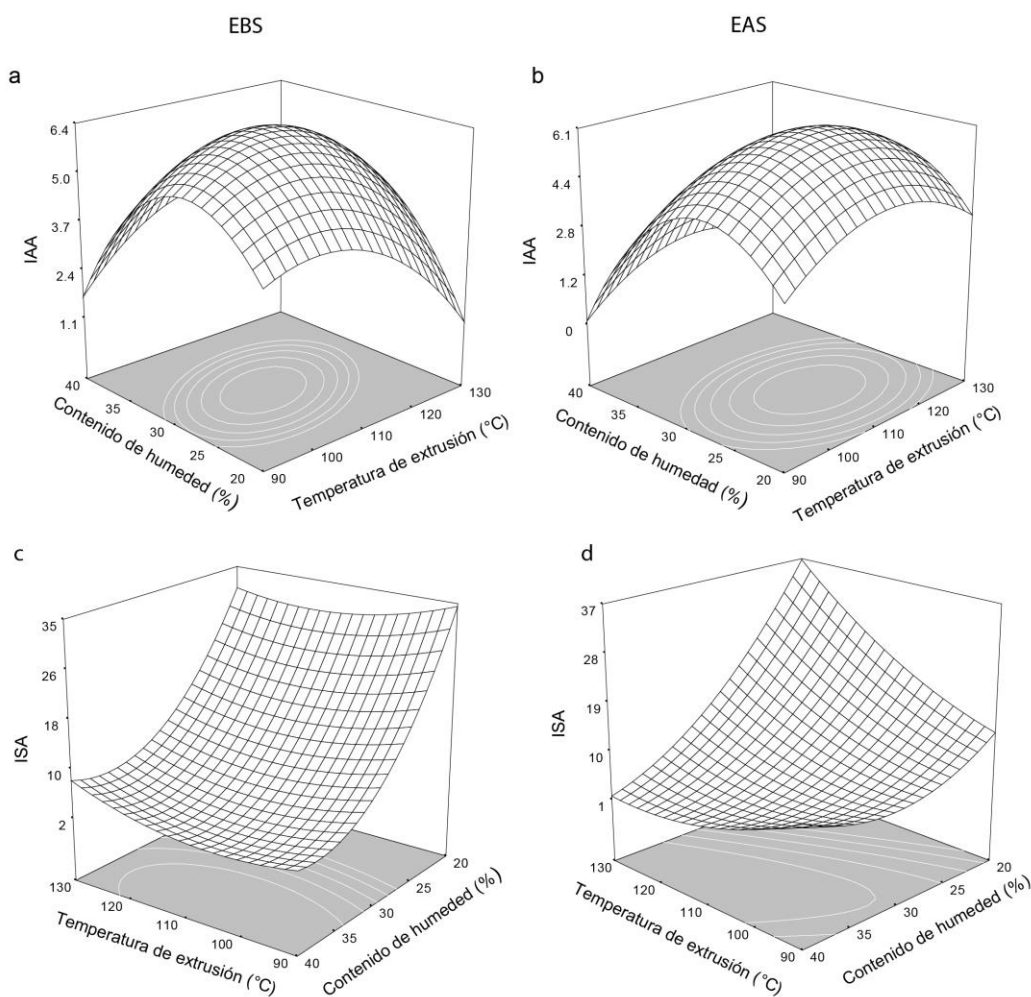


Figura 11. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre IAA (índice de absorción de agua) e ISA (índice de solubilidad en agua) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.

Este comportamiento también se encontró en IAA, teniendo alta relación con los parámetros reológicos (G' , G'' y η) obtenidos. Los aumentos o disminuciones en el contenido de humedad y la temperatura de extrusión, disminuyeron el IAA debido a la baja viscosidad obtenida en estas condiciones. Además de la viscosidad aparente existen más mediciones reológicas que aportan información útil para explicar el comportamiento de la muestra tales como:

El módulo de almacenamiento (G') es una medida de la cantidad de energía almacenada en los materiales y recuperado durante el ciclo, lo que es indicativo del carácter sólido o elástico de los materiales. Otro parámetro que indica el comportamiento físico de un sistema es el módulo de pérdida (G''), que muestra el comportamiento líquido o viscoso (Sing et al., 2003; Karim et al., 2000).

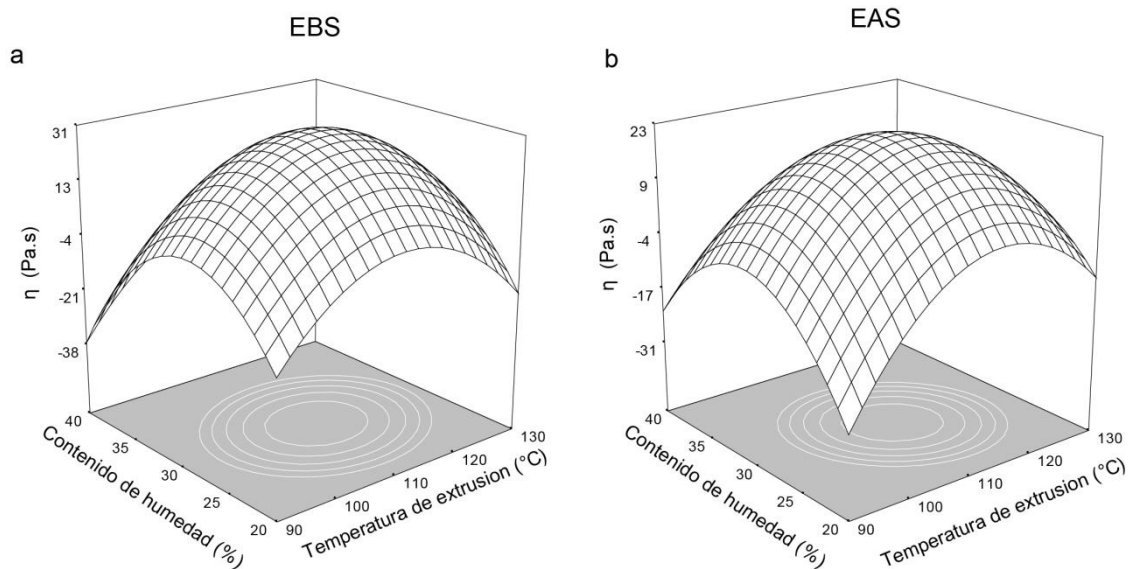


Figura 12. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre η (viscosidad aparente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a velocidad de 280 rpm.

La temperatura de extrusión, contenido de humedad y la velocidad del tornillo de forma significativa ($P < 0.05$) afectó tanto G' y G'' para el EBS y EAS. La

Figura 13a y 13b muestra el efecto de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad en el módulo de almacenamiento (G') de la EBS y EAS, respectivamente. G' , tanto para el EBS y EAS mostró tendencias similares al aumentar la temperatura de extrusión y contenido de humedad. G' aumentó, alcanzando a un valor máximo de 225.87 Pa para el EBS que contiene 29.34% de humedad y una temperatura de extrusión de 110.46 ° C a 277.98 rpm (Figura 13a) y un máximo de 57.83 Pa para los EAS que contienen 27.6% de humedad a 117.7 °C y 279.26 rpm (Figura 13b). G'' , tanto para el EBS y EAS también mostró tendencias similares al aumentar la temperatura de extrusión y contenido de humedad. G'' generó un máximo de 45.53 Pa para EBS a 28.9% de humedad, temperatura de extrusión de 110.92 °C y 277.15 rpm, que es similar a los valores de los EAS generando un valor máximo de 40.35 Pa a una temperatura de extrusión de 112.18 °C, 282.6 rpm y 29.1% de contenido de humedad, lo que indica que el almacenamiento tuvo efectos mínimos sobre el comportamiento viscoso de los productos extruidos. La relación entre los dos módulos se determinó a través de $\tan \delta = G''/ G'$, que es un indicador de las contribuciones relativas de los componentes viscosos (G'') y elásticos (G') para las propiedades viscoelásticas de un material. El contenido de humedad y temperatura de extrusión, afectaron significativamente ($P < 0.05$) a $\tan \delta$ tanto para el EBS y EAS, como se muestra en la Tabla 35. Los valores de G' y G'' aumentaron al aumentar la temperatura de extrusión (Figura 13f). El $\delta \tan$ alcanza un punto silla de 0.20 para el EBS a un contenido de humedad del 28.94%, 116.62 °C y 309.52 rpm y un mínimo de 0,06 para EAS a 33.62% de humedad, una temperatura de extrusión de 116.79 °C y 286.57 rpm (Figura 13e). Los valores bajos de $\tan \delta$ indican que el material es más elástico que viscoso (Karim et al., 2000). Las magnitudes de la elasticidad y la viscosidad no sólo dependen de la densidad, la rigidez, la distribución espacial de los gránulos y del contacto efectivo entre los gránulos (Karim et al., 2000), sino también en las transformaciones físicas y de la extensión de la ruptura de la molécula de almidón generada durante la extrusión (Singh et al., 2003). Estos valores bajos de $\tan \delta$ están relacionados con la formación de AR, IAA, ISA y η , ya que en las

mismas condiciones predichas por el modelo para valores bajos de $\tan \delta$ bajos valores de AR, viscosidad aparente y valores de ISA (Figuras 14b, 12b y 11d, respectivamente), y altos valores de IAA (Figura 1b). Además, estos comportamientos fueron relacionados con la predicción de un valor máximo de G' (Figura 13b).

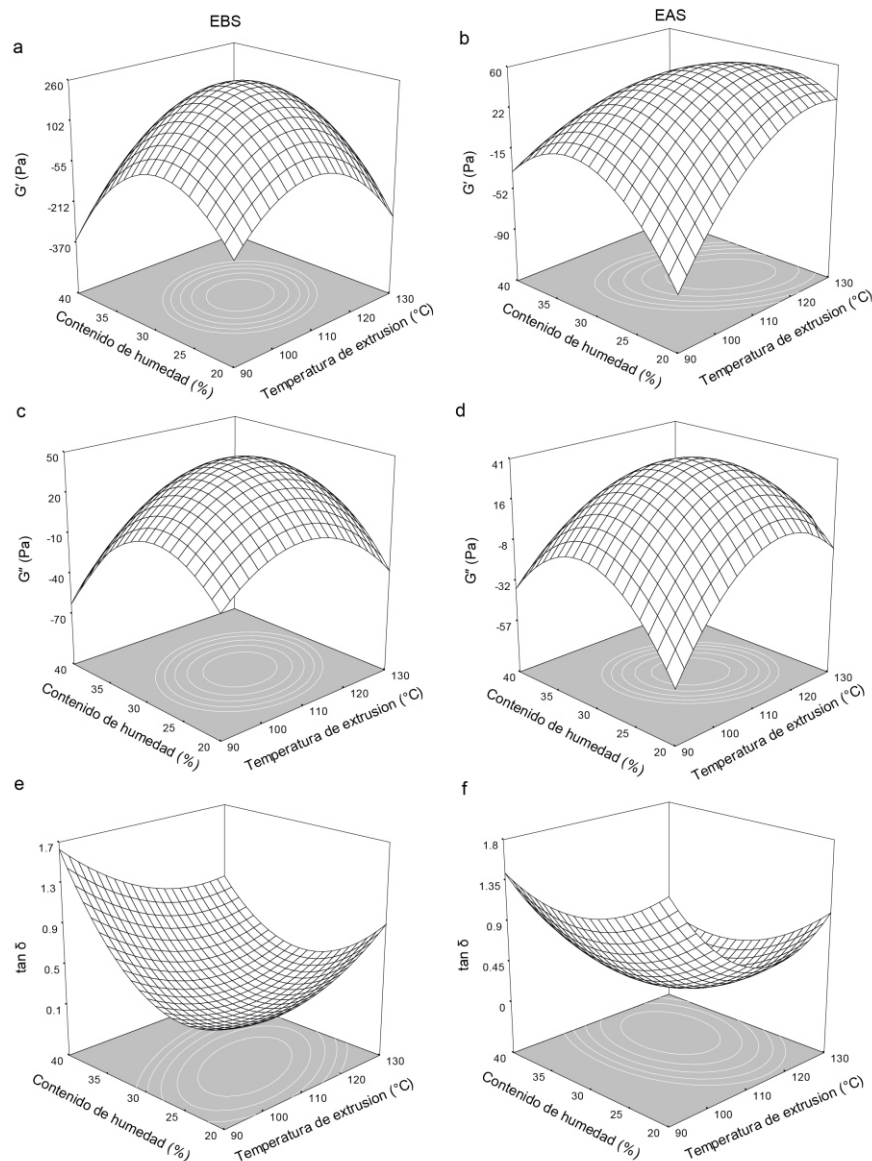


Figura 13. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre, G' (módulo de almacenamiento), G'' (módulo de pérdida) y $\tan \delta$ (tangente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.

5.1.6 Contenido de almidón resistente (AR)

El efecto cuadrático del contenido de humedad, la temperatura de extrusión, y la velocidad del tornillo afectó significativamente ($P < 0.05$) la cantidad de AR generada en EBS y EAS (Tabla 36). El modelo de datos ajustado predijo una cantidad significativa de AR formada en el EBS, que explica el estimado del 85% de la variabilidad en los datos. La Figura 14a muestra los efectos de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad en la formación de AR en EBS, alcanzando un mínimo de 0.380 g/100 g aun contenido de humedad del 30.3%, una temperatura de 112.8 ° C y 276.8 rpm. Incrementos sucesivos o disminución en la temperatura de extrusión y el contenido de humedad aumentan la cantidad de AR (0.960 a 1.100 g/100 g) formado en EBS.

La formación de AR en EAS mostró una tendencia similar, viéndose afectada significativamente ($P < 0.05$) por la velocidad del tornillo. EAS a un contenido de humedad de 29.4%, una temperatura de 101.6 ° C y 286.4 rpm generó un mínimo de 0.400 g/100 g de AR (Figura 14b), debido a la tensión de cizallamiento durante la extrusión esto provoca que las moléculas de amilosa se rompan produciendo así moléculas de almidón menos polimerizados, que no podría ser incorporado en la estructura cristalina disminuyendo de ese modo la cantidad de AR formado (Faraj et al., 2004; González-Soto et al., 2007). Además, otros factores como el tiempo de residencia se han asociado con niveles bajos de formación de RS.

La estructura del almidón está completamente dañado durante tiempos de residencia largos debido a la solubilización de moléculas de amilosa y el hinchamiento de los gránulos de almidón lo cual hace que los granos de almidón pierdan su cristalinidad (González-Soto et al., 2007; Vasanthan et al., 2002) lo que conduce a la baja formación de AR. A altas temperaturas de extrusión y contenidos de humedad, el modelo predice que se formará más AR (1.300 a 1.700 g/100 g). La formación de AR en EAS (Figura 14b) se atribuye a un mejor nucleación y alargamiento de las cadenas de amilosa y amilopectina,

que facilitan la recristalización, o a la retrogradación (Chanvrier et al., 2007; Faraj et al., 2004; Vasanthan et al., 2002; Yadav et al., 2010), donde las moléculas de almidón pueden volver a asociar y formar estructuras empaquetadas estabilizadas por enlaces de hidrógeno (Ozturk et al., 2011). Por esta razón, la absorción de agua y la viscosidad disminuyeron, teniendo relación con los bajos valores de IAA y parámetros reológicos (G' , G'' y η) obtenidos. El mejor rendimiento de AR obtenido fue en EAS de 1.134 g/100 g, con un aumento de 68% en comparación con almidón nativo. Este hallazgo muestra que el proceso de extrusión combinada con el almacenamiento a baja temperatura es una alternativa viable para la producción de AR, a través de un proceso respetuoso con el medio ambiente. Esta cantidad de AR, fue similar a lo reportado en trabajos previos por González-Soto et al. (2006) y Hagenimana et al. (2006), que obtuvieron rendimientos de AR de 0.70 a 1.30 y 0.90 a 3.10 g/100 g de almidón de maíz y almidón de arroz, respectivamente. Sin embargo, nuestros resultados, son superiores a los reportados por Faraj et al. (2004) que obtuvieron rendimientos de RS 0.017 a 0.050 g / 100 g de harina de la cebada extruido. Como se observa en la Tabla 36, el incremento de AR fue mayor en los tratamientos con almacenados a baja temperatura (EBS) en comparación con los tratamientos de EAS, generando un aumento medio del 26%.

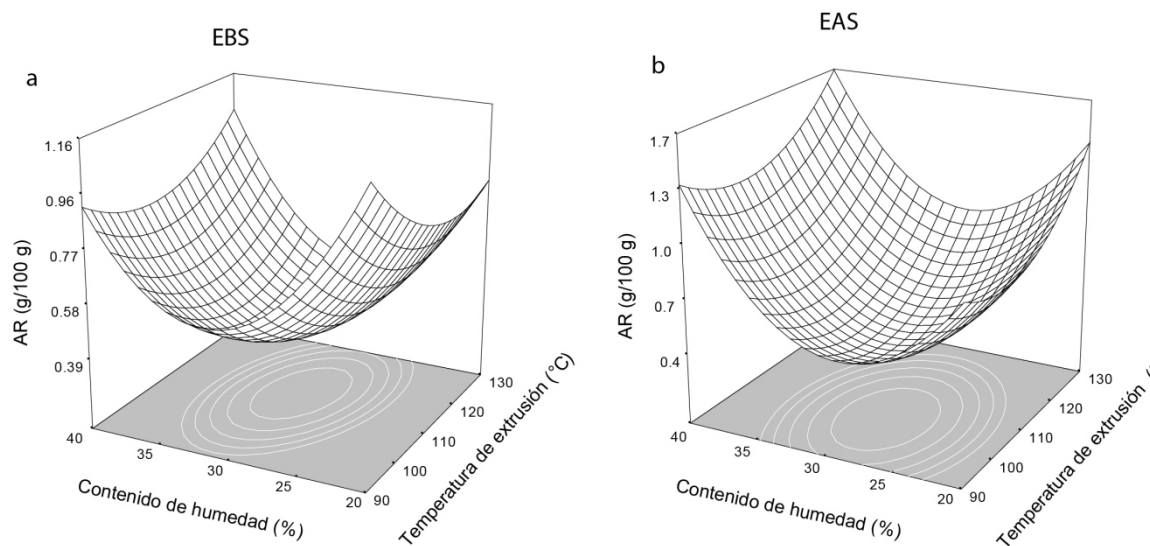


Figura 14. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre AR (almidón resistente) en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de tornillo de 280 rpm,

5.1.7 Propiedades térmicas

La entalpía (ΔH) es una medida de la cristalinidad de amilopectina dando la calidad y cantidad de los cristales de almidón (Buckow et al., 2007) o la energía requerida para destruir los puentes de hidrogeno dentro de las zonas de unión (Lazaridou et al., 2003). En el almidón nativo se encontraron dos transiciones endotérmicas, la primera correspondiente a la gelatinización del almidón (T_g) y el segundo para el almidón resistente (T_f). Para almidón nativo de maíz se obtuvo una T_g de 69.89 °C y ΔH de 9.33 J/g y para la T_f de 102 °C con una ΔH de 0.06 J/g, resultados similares han reportado (Alamri et al., 2013; Jongsutjarittam and Charoenrein, 2014; Masatcioglu et al., 2014; Singh et al., 2003), que la primera entalpia elevada del primer termograma del almidón nativo es debida a que no presenta ningún proceso térmico.

La temperatura de extrusión, el contenido de humedad y velocidad del tornillo, afectaron significativamente la entalpía de gelatinización de EAS (Tabla 5) en sus efectos lineales y cuadráticos. El modelo propuesto estima adecuadamente la variabilidad de los datos, en un 91%. La Figura 15a, muestra la entalpía en EAS, indicando que los cambios en este componente resultan de los efectos cuadráticos del contenido de humedad y la temperatura de extrusión, generando un punto silla, resultando en valores de entalpía de 0.38 J/g para el segundo endoterma correspondiente al contenido de AR, cuyo valor se incrementó debido a la recristalización de las cadenas de amilopectina (Sasaki et al., 2000; Wasserman et al., 2007). Este segundo pico endotérmico es menor al primero, debido a que presenta un nuevo orden menos estable que el almidón nativo (Liu et al., 2007), se observa a altas temperatura y bajas humedades se genera un daño mayor en el almidón disminuyendo la entalpía del primer pico endotérmico debido a la dextrinación de los componentes (Ciesla and Eliasson, 2007; Kim et al., 2006; Wandee et al., 2011), por tanto existe mayor cantidad de almidón gelatinizado, es decir, se requiere menos energía para gelatinizar el almidón residual (Mondragón et al., 2004).

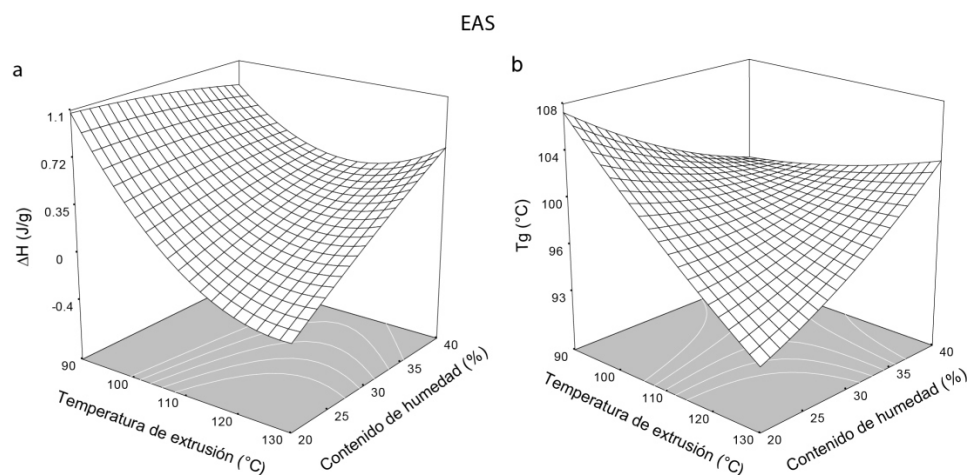


Figura 15. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre ΔH (entalpía) y T_g (temperatura de gelatinización) una velocidad de 280 rpm, EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C).

La Figura 15b muestra la temperatura de gelatinización (T_g) en EAS generando un punto silla de 100.97 °C a una condición de temperatura de extrusión de 92.35 °C, un contenido de humedad del 34.9% y una velocidad de tornillo de 230.5 rpm. Debido al almacenamiento a baja temperatura después del proceso de extrusión coacción se da lugar la formación de dobles hélices de modo que las cadenas de amilosa tienen más oportunidad a asociarse, aumentando la formación de cristales de amilosa mediante puentes de hidrógeno y otras fuerzas moleculares, generando un pico de transición térmica a más alta temperatura (Shi and Gao, 2011; Xu et al., 2013; Zhang and Jin, 2011). En la Figura 35 (Anexo II), se muestran los endotermas del almidón nativo con un valor promedio de 9.91 J/g y de EAS observándose en estas harinas la desaparición de este endoterma debido al daño durante el proceso de extrusión, además de entalpías ligeramente más alta en el segundo endoterma que el almidón normal debido a una mayor cristalinidad (Sing et al., 2003).

5.1.8 Propiedades de pasta.

La viscosidad esta inversamente relacionada con el grado de gelatinización de los almidones, por tanto harinas de almidón procesadas que contienen almidón gelatinizado no desarrollan un aumento de la viscosidad a su máximo potencial (Sánchez et al., 2013), y por el contrario harinas que contienen almidón nativo tienden a desarrollar (Arámbula et al. 2001) viscosidad, por su bajo grado de gelatinización. Las curvas del desarrollo de viscosidad, se muestran en la Figura 16, donde se refleja la magnitud de la viscosidad máxima de diversos almidones sometidos a extrusión a diferentes contenido de humedad, observando que a mayor contenido de humedad, se muestra un mayor desarrollo de viscosidad posiblemente debido al menor daño producido durante la extrusión debido al exceso de humedad en las muestras antes de ser procesadas.

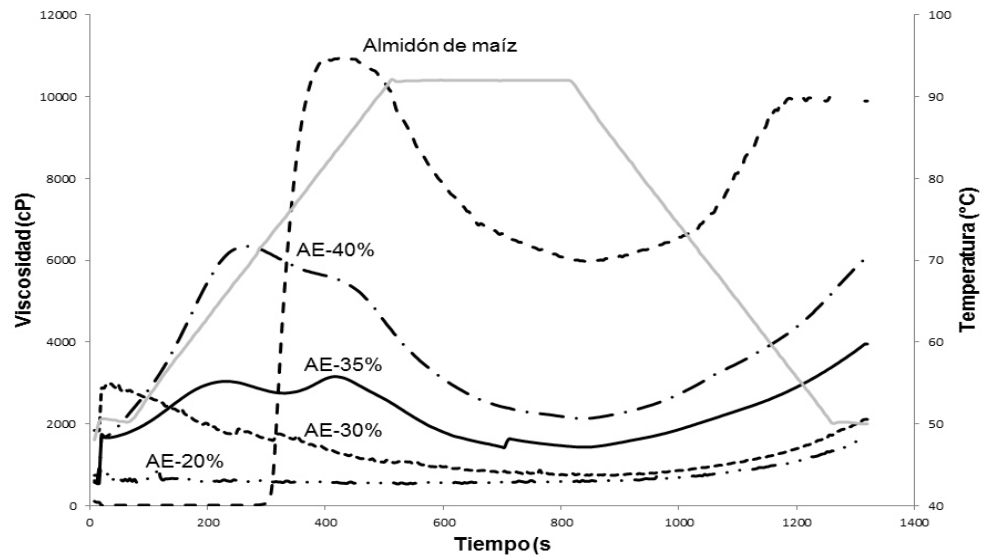


Figura 16. . Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a extrusión (AE) a diferentes contenido de humedad.

La Figura 17^a, muestra la viscosidad máxima en EBS, indicando que los cambios en este componente resultan del contenido de humedad, generando un punto silla de 3026.8 cP a una temperatura de extrusión de 95.29 °C, un contenido de humedad del 30.82%, y una velocidad de 124.29 rpm, incrementos en el contenido de humedad causan un incremento de este parámetro. La viscosidad máxima de EAS mostró tendencia similar pero con valores más altos en la Figura 17b, los efectos de la temperatura de extrusión y el contenido de humedad fueron significativo, el modelo ajustado presento un punto silla de 5310.87 cP a un contenido de humedad de 31.45%, una temperatura de extrusión de 104.05 °C y un a velocidad de tornillos de 232.83 rpm, subsecuentes incrementos del contenido de humedad y disminuciones de temperatura causan aumento de este componente. Los más altos valores de viscosidad máxima de extruidos se asocian con una alta proporción de almidón sin gelatinizar, mientras que los valores más bajos de viscosidad indican una alta cantidad de almidón gelatinizado debido al daño molecular resultante de las condiciones de procesamiento de extrusión (Hagenimana et al., 2006).

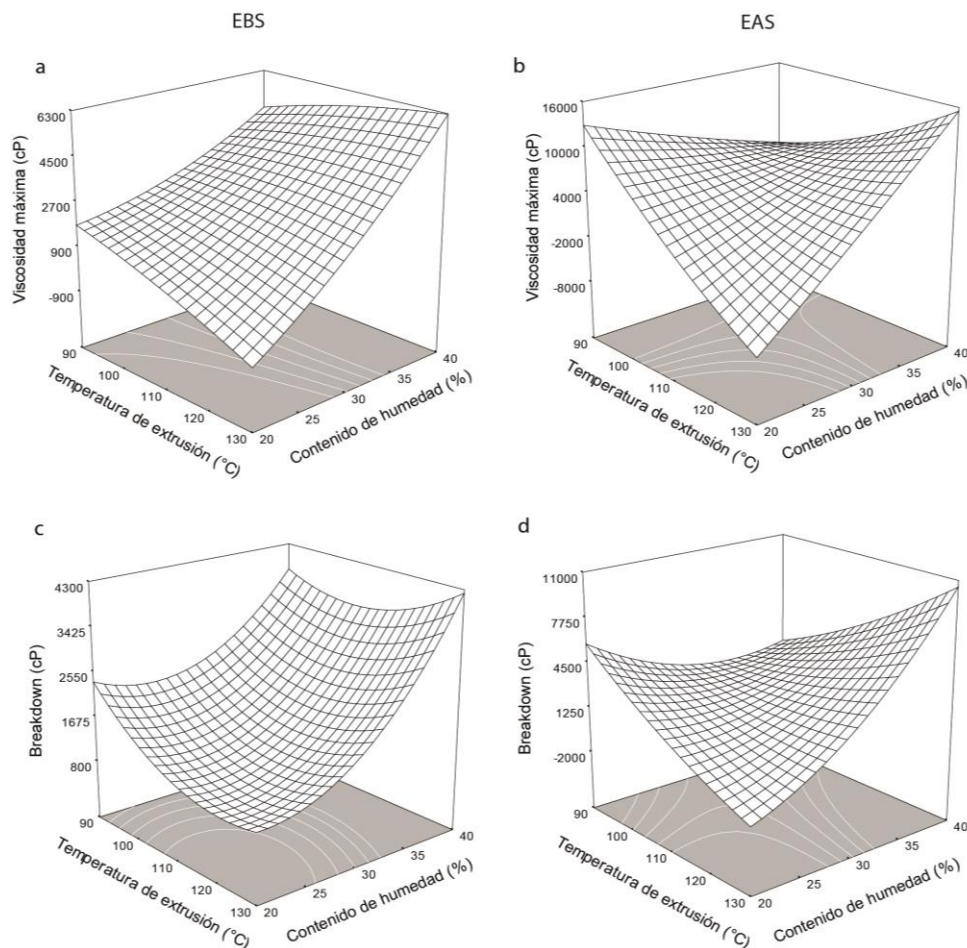


Figura 17. Efecto de la temperatura de extrusión y del contenido de humedad sobre la viscosidad máxima y el Breakdown en EBS (extruidos antes del almacenamiento), EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a una velocidad de 280 rpm.

La diferencia del valor de la viscosidad de la pasta al final del ciclo de enfriamiento y el valor correspondiente al inicio de mismo ciclo, corresponde a la viscosidad de retrogradación (Breakdown). La retrogradación es un proceso de reordenación de las moléculas de amilosa y partes de amilopectina lixiviada durante la gelatinización, uniéndose mediante enlaces de puente de hidrógeno, entre ellas y los gránulos de almidón, formando una matriz que envuelve a los gránulos confiriéndole rigidez al gel a las soluciones de almidón al enfriarse después de gelatinizarse (Liu et al., 2007; Sasaki et al., 2015; Xu et al., 2013) Esta disminución en la viscosidad después del almacenamiento se

puede observar en la Figura 18, ya que se presenta un menor grado de gelatinización después del proceso lo que conlleva a generar una menor retrogradación del almidón después del almacenamiento (El-Dash et al.1983), y por tanto menor disminución de la viscosidad. En la Figura 17c se muestra la viscosidad de retrogradación (Breakdown) en EBS, indicando que los cambios en este componente resultan del contenido de humedad de los extrudidos, generando un valor mínimo de 692.37 cP a una temperatura de extrusión de 117.40 °C, con un contenido de humedad del 19.95% y una velocidad de 366.83 rpm, incrementos en el contenido de humedad causan un incremento en la retrogradación. La Figura 17d, muestra la retrogradación “Breakdown” en EAS, indicando que los cambios son resultado del efecto del contenido de humedad. El modelo de segundo orden ajustado mostró un punto silla de 2285.81 cP a un contenido de humedad de 32.85 %, una temperatura de extrusión de 93.21 °C y una velocidad de tornillo de 280.97 rpm, incrementos del contenido de humedad causan aumento de este componente.

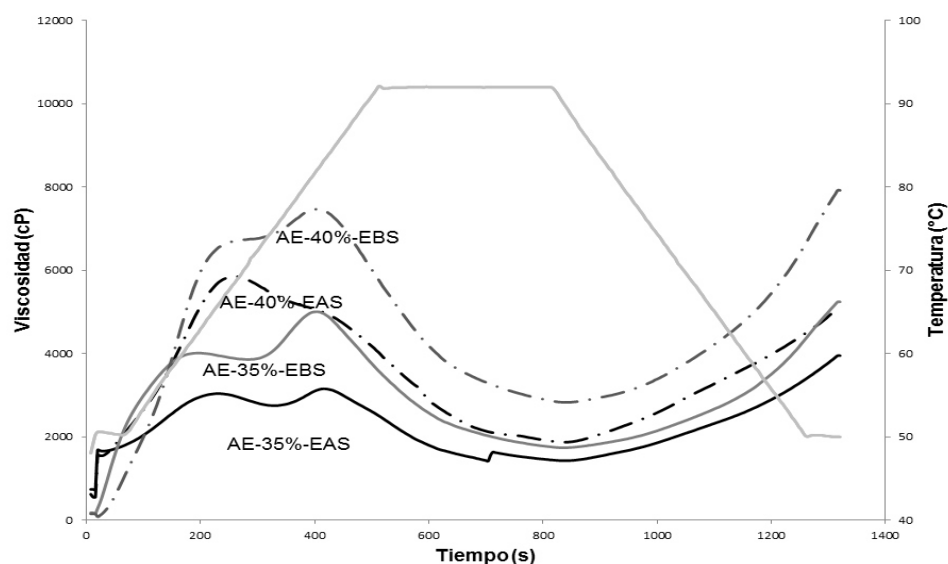


Figura 18. . Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) de EBS (extruidos antes del almacenamiento) y de EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C).

5.1.9 Análisis microestructural

En las Figuras 19a y 19b se muestra los gránulos de almidón maíz nativo, sin presentar daños en la superficie con un tamaño aproximado de 12 μm (Fannon et al., 1992; Gonzales et al., 2006; López et al., 2007; Singh et al., 2003). Las Figuras 19c y 19d muestran un estándar de almidón resistente del kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd. Co. Wicklow, Ireland) con 52 % AR, apreciando una aglomeración compacta de 50 o más gránulos de almidón con un tamaño que varía entre 20 y 40 μm . Sin embargo de Figuras 19e a la Figura 19f, se muestra como la estructura granular del almidón nativo fue destruida después de ser sometida al proceso de extrusión, como consecuencia de las altas temperaturas, esfuerzos mecánicos y alta presión generando gelatinización y dextrinación del almidón (Reddy et al., 2014; Faraj et al., 2004; Vasanthan et al., 2002; Martinez-Bustos et al., 1998). El principal mecanismo de la fragmentación durante el proceso de extrusión es la dextrinación formando estructuras amorfas con poros en su estructura, debido a la evaporación a la salida del extrusor (Kim et al., 2006; Sing et al., 2003; Parada et al., 2011) al incrementar la temperatura se eleva la expansión del almidón generando una estructura más suave con mayor número de poros, (Jongsutjarittam and Charoenrein, 2014; Lazou and Krokida, 2010), los cuales son mostrados en la Figura 19f, con tamaños de aproximadamente 20 μm de diámetro. La presencia de amilosa que podrían filtrarse fuera de los gránulos de almidón durante la cocción se une a la superficie de la extruido (Gill et al., 2002), es mostrados en la Figura 19h como AR, que conduce a la pérdida de aspecto granular del almidón a una forma irregular como consecuencia de la gelatinización, donde los gránulos de almidón se re-asocian en una estructura tipo esponja en el interior del almidón retrogradado (Reddy et al., 2014), el AR muestra mayor cristalinidad una forma alargada y una estructura laminar compacta (Zhang et al., 2011). Estos resultados se relacionan con las propiedades térmicas y reológicas debido a las disminuciones de la entalpia y la viscosidad máxima en EAB compradas con el almidón nativo.

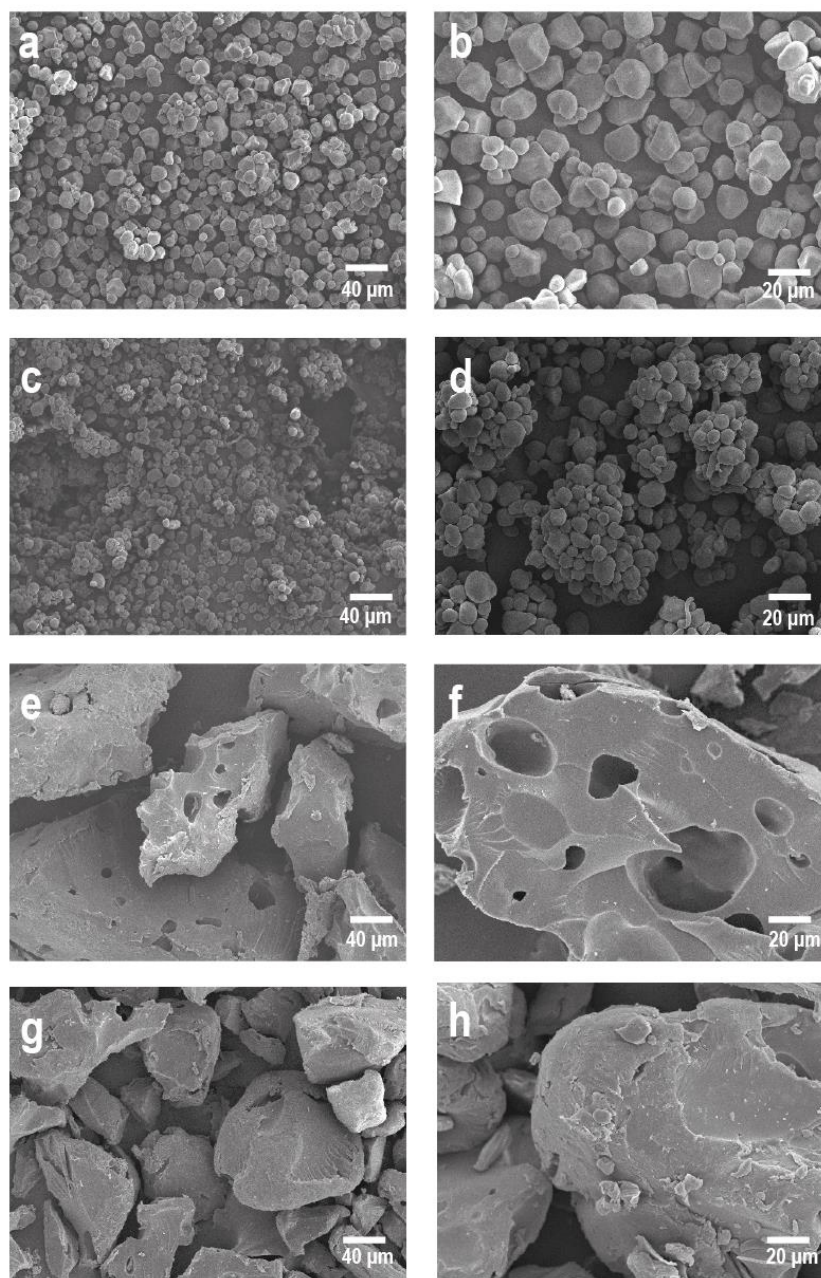


Figura 19. Análisis microestructural. Almidón nativo (a-200x, b- 750x), almidón resistente 52% (c-200x, d-750x), almidón extruido (e/g-200x, f/h-750x)

5.1.10 Optimización de las condiciones de proceso para la formación de almidón resistente

A través de la aplicación de análisis canónico (Meyers, 1971) los puntos estacionarios fueron localizados para las respuestas de RS, IAA e ISA. Aplicando una optimización grafica de multirespuestas (Quintero-Ramos et al., 2002 y Gómez Moriel et al., 2011), los valores fueron agrupados y seleccionados para una optimización general de este proceso. El criterio aplicado para esta optimización gráfica, fue encontrar las condiciones que dieran los valores más altos de almidón resistente e Índice de absorción en agua y con los más bajos valores índice de solubilidad en agua.

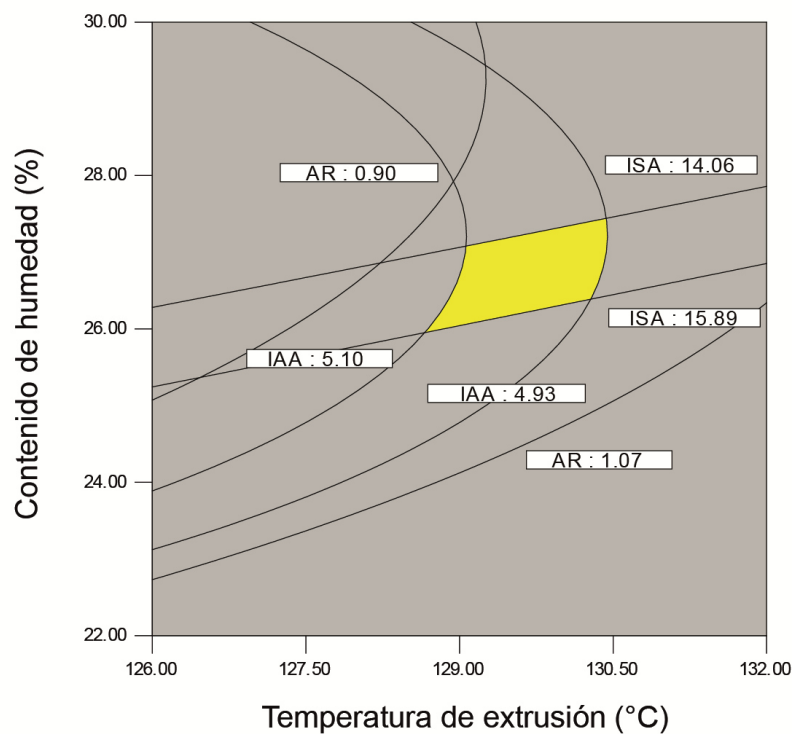


Figura 20. Región optimizada de la superposición de las gráficas de contorno de las características de las harinas obtenidas por extrusión. IAA, ISA, AR.

La condición óptima para este proceso fue basado sobre la región la cual satisface este criterio mostrado anteriormente. La sobre posición de las

gráficas de contorno de las gráficas individuales de AR, IAA e ISA, resultaron en una región óptima (Figura 20). Las condiciones óptimas predichas fueron: temperatura de extrusión (128-131 °C), velocidad de tornillo (240 rpm) y el contenido de humedad (25-27%), que permitió obtener valores de 0.920-0.990 g/100 g de contenido en AR, 3.81 a 4.98 para la IAA, 19.4 a 22.23 por ISA, η = 1.77-3.81 Pa·s, G' = 42.33 a 48.46 Pa y G'' = 7.27 hasta 13.83 Pa, para las propiedades reológicas y 0.08 a 0.13 J/g para la entalpía de gelatinización. Las condiciones óptimas identificadas se verificaron mediante la realización de un experimento independiente con EAS. La Tabla 9 muestra los valores obtenidos experimentalmente y los valores estimados por el modelo para el proceso de optimización. Las cantidades de error entre los valores obtenidos experimentalmente y los valores estimados por el modelo fueron 9,09%, 10,33% y 3,41% para el contenido de AR, IAA e ISA, respectivamente.

Tabla 15. Valores experimentales y predichos para las variables de respuesta después del proceso de extrusión.

Variable	Experimental	Optimizado	% error
IAA	4.34 ± 0.15	4.84	10.33
ISA	21.06 ± 0.52	20.34	3.41
AR	0.88 ± 0.08	0.96	9.09

IAA-Índice de absorción de agua, ISA-Índice de solubilidad en agua, AR-Almidón resistente (g AR/100g muestra).

5.1.11 Conclusión etapa 1.

El mejor tratamiento para la generación de AR se obtuvo en EAS con 1,134 g/100g, a una temperatura de 120°C, 35 % de contenido de humedad a 240 rpm, correspondiente a un aumento de 68% en comparación con almidón nativo. Este resultado muestra que el proceso de extrusión-cocción combinado con el almacenamiento a baja temperatura es una alternativa viable para la producción de RS.

5.2 Etapa 2. Procesamiento de almidón de maíz sometido a extrusión-cocción con adición de ácido cítrico.

En la segunda etapa se llevó a cabo una nueva extrusión de almidón nativo de maíz con diferentes niveles de ácido cítrico y contenidos de humedad para incrementar los niveles de AR obtenidos en la etapa I. El proceso de extrusión se llevó a cabo en la condición óptima generada en la etapa I del proyecto, utilizando una temperatura de extrusión de 130°C, velocidad de tornillo de 240 rpm con variaciones en los niveles de ácido cítrico (0- 10.4%) y del contenido de humedad (18 al 32%), las combinaciones de este experimento se muestran en la Tabla 3.

5.2.1 Índice de absorción y solubilidad en agua de extruidos adicionados con ácido cítrico.

El IAA es una medida de la capacidad que tiene la harina para retener agua además es un indicador del rendimiento de masa fresca, el cual depende de la disponibilidad de los grupos hidrófilos y la capacidad de las macromoléculas para formar geles. La Figura 21a muestra el IAA en EAS con adición de ácido cítrico, indica que los cambios de este componente resultan del efecto del contenido de humedad, alcanzando un valor máximo de 5.48 a un contenido de humedad de 29,4 % a una concentración de ácido cítrico de 2.2%. Los aumentos de humedad causaron un aumento del IAA, los cuales fueron acordes a los reportados por Jozonovi et al. (2016) y Zhu et al. (2010).

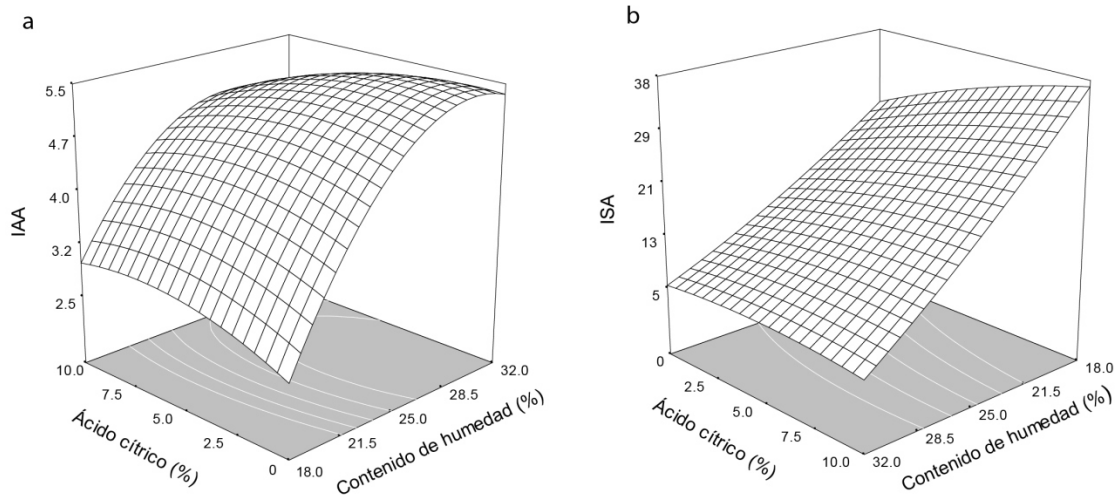


Figura 21. Efecto del contenido de humedad y cantidad de ácido cítrico, sobre Índice de absorción de agua (IAA) e Índice de solubilidad en agua (ISA) en EAS (extruidos después del almacenamiento durante 120 h a 4°C) a temperatura de 130 °C y velocidad de tornillo de 240 rpm.

El ISA es parámetro que indica la cantidad de sólidos que son disueltos por el agua cuando una muestra de harina se somete a exceso de agua a temperatura ambiente, la Figura 21b muestra ISA en EAS con adición de ácido cítrico, los cambios resultan del efecto del contenido de humedad, generando un punto silla no detectable con un contenido de humedad de 44,4 % y una concentración de ácido cítrico de 0%. La disminución del contenido de humedad causó un aumento de este compuesto, debido a la dextrinación generada en el proceso de extrusión incrementando en el porcentaje de almidón gelatinizado (Gonzales et al., 2007; Hagenimana et al., 2006; Masatcioglu et al., 2014; Sarawong et al., 2014 y Zhu et al. 2010).

5.2.2 Viscosidad aparente y cantidad de almidón resistente de extruidos adicionados con ácido cítrico.

EAS

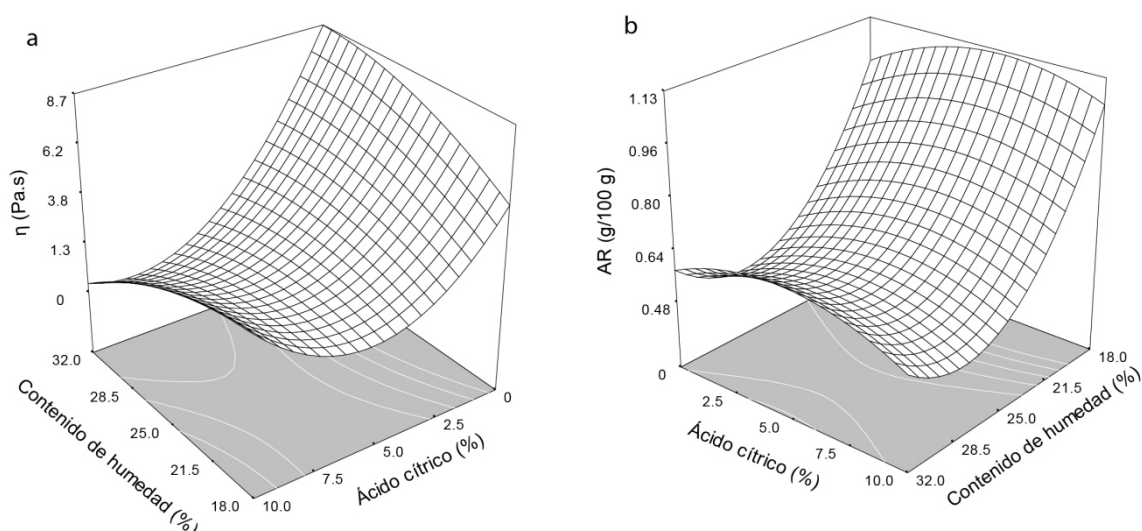


Figura 22. Efecto del contenido de humedad y cantidad de ácido cítrico, sobre la viscosidad aparente (η) y el contenido de almidón resistente (AR) a temperatura de 130 °C y velocidad de tornillo de 240 rpm.

La Figura 22a muestra la viscosidad aparente (η) en EAS con adición de ácido cítrico, los cambios en η resultan del efecto de la concentración de ácido cítrico, generando un punto silla de 1.04 Pa.s en un contenido de humedad de 22,7% y una concentración de ácido cítrico de 6.27%. Los aumentos de la concentración de ácido cítrico causaron una disminución de este componente debió a una interacción con el almidón resultando en una modificación química hidrolizando los polímeros de almidón causando una reducción en las cadenas en las moléculas de amilosa y amilopectina (Wang et al., 2007). La Figura 22b muestra la cantidad de AR en EAS con adición de ácido cítrico, los cambios en AR de debieron al efecto del contenido de humedad, generando un punto silla de 0.57 g/100g de muestra en un contenido de humedad de 27.9 %y una concentración de ácido cítrico de 5.16%. Los aumentos en el contenido de humedad causaron una disminución de AR debió una falta de dextrinación del

almidón disminuyendo su capacidad de retrogradación (Agustiano et al., 2005; Faraj et al., 2004 y Masatcioglu et al., 2014).

Autores como Unlu and Faller. (1992) y Htoon et al. (2010), reportaron un incremento en la cantidad de AR al aumentar la concentración de ácido cítrico atribuido a un incremento de la dextrinación del almidón durante el proceso de extrusión, en este estudio no se encontró esta tendencia debido posiblemente a las características de almidón contenido en materia prima empleada en nuestro estudio, Mientras que en el estudio realizado por estos autores, utilizaron almidón alto en amilosa, la cual es la principal responsable de la formación de AR durante la retrogradación (Hasjim and Jane. 2009).

5.2.3 Ajuste de Modelo

La influencia del contenido de humedad y la concentración de ácido cítrico en las propiedades físicas y químicas del almidón de maíz extruido se muestran en las Tabla 16. El análisis de varianza para todas las respuestas indica un ajuste adecuado sin falta de ajuste, (Tabla 17) siendo afectadas significativamente por el contenido de humeado más que por el ácido cítrico. Los coeficientes de regresión se obtuvieron por ajuste de los datos experimentales para el modelo de segundo orden (Tabla 18), con valores de R^2 satisfactorios.

5.2.4 Optimización del proceso de extrusión-cocción con adición de ácido cítrico.

A través de la aplicación de análisis canónico (Meyers, 1971) los puntos estacionarios fueron localizados para las respuestas de RS, IAA e ISA. Aplicando una optimización gráfica de multirespuestas (Quintero-Ramos et al., 2002 y Gómez Moriel et al., 2011), los valores fueron agrupados y seleccionados para una optimización general de este proceso. El criterio aplicado para esta optimización gráfica, fue encontrar las condiciones que dieran los valores más altos de almidón resistente (AR) e índice de absorción en agua (IAA) y con los más bajos valores índices de solubilidad en agua (ISA).

La condición óptima para este proceso fue basado sobre la región la cual satisface este criterio mostrado anteriormente. La sobre posición de las gráficas de contorno de las gráficas individuales de AR, IAA e ISA, resultaron en una región óptima (Figura 23). Las condiciones óptimas predichas fueron: una concentración de ácido cítrico (7.6-8.6%), velocidad de tornillo (240 rpm) y el contenido de humedad (32.6-32.9%), que permitió obtener valores de 0.65-0.67 g/100 g de contenido en AR, 4.06 a 4.74 para la IAA, 4.13 a 5.06 para ISA.

El mejor tratamiento para la generación de AR fue de 1.15 g/100g, a temperatura de 130°C, 18 % de contenido de humedad, una concentración de 5.2% de ácido cítrico a 240 rpm, correspondiente a un aumento de 77%.

En resumen al optimizar de manera teórica se obtuvo una cantidad de almidón resistente (AR) menor de 1g / 100 g de muestra por tal motivo no se llevó a cabo una optimización física del proceso, optando por cambiar de técnicas para incrementar la cantidad de AR, se implementó una tercera etapa experimental que se muestra a continuación.

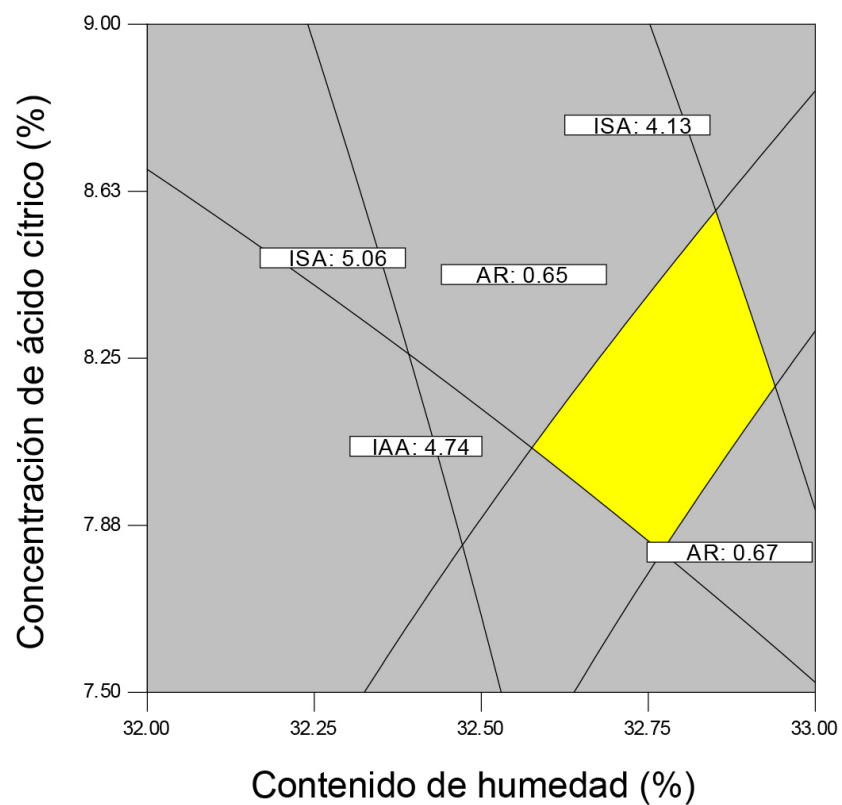


Figura 23. Región optimizada de la superposición de las gráficas de contorno de las características de las harinas obtenidas por extrusión con adición de ácido cítrico. IAA, ISA, AR

Tabla 16. Características fisicoquímicas del almidón nativo de maíz extruido con adición de ácido cítrico a diferentes condiciones de proceso

Tratamiento	Contenido de humedad (%)	Contenido de ácido cítrico (%)	EAS			
			AR	IAA	ISA	η
1	20	1.5	0.81 ± 0.03	4.38 ± 0.05	19.15 ± 0.46	2.67 ± 0.48
2	30	1.5	0.49 ± 0.02	6.18 ± 0.33	5.36 ± 0.32	4.19 ± 1.14
3	20	8.8	0.87 ± 0.05	4.06 ± 0.13	28.69 ± 0.97	4.18 ± 0.07
4	30	8.8	0.51 ± 0.01	5.26 ± 0.14	8.91 ± 1.23	1.55 ± 0.08
5	18	5.2	1.15 ± 0.09	2.53 ± 0.08	37.07 ± 0.38	0.15 ± 0.11
6	32	5.2	0.73 ± 0.01	4.70 ± 0.22	7.49 ± 0.45	0.12 ± 0.03
7	25	0	0.58 ± 0.06	4.18 ± 0.17	18.98 ± 0.36	9.45 ± 0.23
8	25	10.3	0.56 ± 0.10	4.52 ± 0.20	20.68 ± 0.79	0.14 ± 0.01
9	25	5.2	0.58 ± 0.04	5.32 ± 0.31	15.77 ± 0.65	1.56 ± 0.20
10	25	5.2	0.48 ± 0.01	5.28 ± 0.43	20.93 ± 1.64	1.83 ± 0.38
11	25	5.2	0.71 ± 0.02	4.97 ± 0.22	19.00 ± 1.20	0.68 ± 0.03
12	25	5.2	0.62 ± 0.03	4.91 ± 0.09	20.27 ± 2.80	1.11 ± 0.06
13	25	5.2	0.74 ± 0.03	5.14 ± 0.21	14.99 ± 0.63	1.43 ± 0.30

*Valores presentados el promedio de tres valores. AR = cantidad de almidón resistente después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; ISA = Índice de solubilidad en agua después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; IAA = Índice de absorción de agua después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; η = viscosidad aparente después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico.

Tabla 17. Análisis de varianza de las características fisicoquímicas de almidón de maíz adicionado con ácido cítrico extruido a diferentes condiciones de proceso

Fuente	GL	Cuadrados medios (EAS)			
		AR	IAA	ISA	η
Modelo	5	0.073*	1.35*	151.16*	11.70*
Contenido de humedad (A)	1	0.20*	4.72*	710.74*	0.17
Concentración de ácido cítrico (B)	1	3.71 x 10-4	0.058	30.03	25.58*
AB	1	4.41 x 10-4	0.12	8.97	4.31
A ²	1	0.13	1.83	3.06	1.25
B ²	1	0.017	0.15	2.2	25.27
Residual	7	8.48 x 10-3	0.33	16.09	2.85
Falta de ajuste	3	5.40 x 10-3	0.74	28.01	6.4
Error	4	0.011	0.032*	7.15	0.19
R ²		0.86	0.75	0.87	0.75

*Significancia (P <0.05).EAS = extruidos después del almacenamiento por 120 h a 4°C, AR = cantidad de almidón resistente; ISA = Índice de solubilidad en agua; IAA = Índice de absorción de agua, η = viscosidad aparente.

Tabla 18. Coeficiente de regresión del modelo de segundo orden de la relación entre la respuesta y la variable independiente de las características fisicoquímicas de almidón de maíz adicionado con ácido cítrico extruido a diferentes condiciones de proceso

Coeficiente	AR	IAA	ISA	η
b_0	0.63*	5.12*	18.19*	1.32*
b_1	-0.16*	0.77*	-9.43*	-0.14
b_2	0.01	-0.09	1.94	-1.79*
b_{12}	-0.01	-0.17	-1.50	-1.04
b_{11}	0.14*	-0.51	0.66	-0.42
b_{22}	-0.05	-0.15	-0.56	1.91*

*Significancia ($P < 0.05$). AR= cantidad de almidón resistente después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; ISA = Índice de solubilidad en agua después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; IAA = Índice de absorción de agua después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico; η = viscosidad aparente después del proceso de extrusión con adición de ácido cítrico.

5.3 Etapa 3. Procesamiento de almidón de maíz sometido a hidrólisis ácida (AMCS), extrusión-cocción (ECP) y ciclos de autoclave e enfriamiento (AMCS)

5.3.1 Índice de absorción en agua (IAA) de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS

El IAA es un indicador de la capacidad de la harina para absorber el agua, que depende de la capacidad de los grupos hidrófilos de unir a las moléculas de agua y de la capacidad de las macromoléculas para formar un gel [González-Soto et al., 2007]. En la tabla 19 se muestran los valores de IAA para el almidón sometido a AMCS, ECP y ACCS. Los valores más altos de IAA se obtuvieron en los tratamientos sometidos a ECP mostrando diferencia significativa ($P > 0.05$) con los tratamientos sometidos a hidrólisis y ciclos de autoclave. Los altos valores de IAA en los tratamientos sometidos a ECP, fueron causados debido al daño generado en el almidón durante la extrusión, que provocó su gelatinización debido a la temperatura, a los esfuerzos cortantes y presión generada dentro del equipo, favoreciendo la capacidad del almidón para absorber agua (Wang et al., 2012). Resultados similares han sido reportados por Zazueta-Morales et al., (2002), Sánchez-Madrigal et al., (2013) para los productos extruidos de maíz.

5.3.2 Índice de solubilidad en agua (ISA) de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS.

El ISA es parámetro que indica la cantidad de sólidos que son disueltos por el agua o almidón destirado (Bhatnagar and Hanna. 1994) cuando una muestra de harina se somete a exceso de agua a temperatura ambiente. En la tabla 19 se muestran los valores de ISA para el almidón sometido a AMCS, ECP y ACCS. Los almidones sometidos a hidrólisis química incrementaron el ISA a niveles de (3.24-4.67) debido al proceso de hidrólisis ácida formando cadenas lineales cortas de amilosa y amilopectina (Brumovsky and Thompson. 2001; Shin et al., 2004; Thompson. 2000), comparado con el almidón de maíz sin tratamiento.

Tabla 19. Propiedades fisicoquímicas y reológicas del almidón de maíz sometido ACCS, AMCS y ECP.

Tratamiento	IAA	ISA	AR	Tg	ΔH	Viscosidad Final	Viscosidad de retrogradación
Almidón de maíz	$1.82 \pm 0.03e$	$0.04 \pm 0.03f$	$0.82 \pm 0.17 h$	$72.38 \pm 0.06b$	$9.103 \pm 0.25a$	$9719 \pm 2489c$	$3778.5 \pm 198.67b$
Almidón de maíz EPC	$9.88 \pm 0.82a$	$25.65 \pm 2.44a$	$0.85 \pm 0.12h$	$73.30 \pm 1.33b$	$0.027 \pm 0.002c$	$827.0 \pm 469.51d$	$383.5 \pm 372.64c$
ACCS / almidón de maíz	$6.02 \pm 0.13b$	$1.51 \pm 0.25ef$	$8.47 \pm 0.09d$	$74.86 \pm 2.61ab$	$0.08 \pm 0.009c$	$19739.5 \pm 198.6ab$	$7882 \pm 806a$
AMCS /ACT	$2.07 \pm 0.13e$	$4.67 \pm 0.30cd$	$0.61 \pm 0.04h$	$75.85 \pm 0.07ab$	$8.860 \pm 0.07a$	$9576.0 \pm 609.5c$	$4204 \pm 353.5b$
AMCS / ACT / ECP	$9.28 \pm 0.05a$	$25.16 \pm 0.51a$	$0.82 \pm 0.02h$	$73.19 \pm 1.81b$	$0.027 \pm 0.004c$	$613.5 \pm 249.8d$	$380.5 \pm 239.7c$
ACCS / ACT	$5.56 \pm 0.18b$	$7.53 \pm 0.94c$	$8.87 \pm 0.08c$	$75.65 \pm 0.62ab$	$0.09 \pm 0.011c$	$20842.5 \pm 294.8a$	$9085.0 \pm 48.1a$
AMCS / AFOS	$1.92 \pm 0.14e$	$3.24 \pm 0.48def$	$0.68 \pm 0.08h$	$74.97 \pm 0.02b$	$9.039 \pm 0.06a$	$8735.5 \pm 245.36c$	$4835.0 \pm 111.2b$
AMCS/ AFOS / ECP	$9.38 \pm 0.22a$	$26.89 \pm 1.20a$	$1.25 \pm 0.06g$	$74.00 \pm 1.86b$	$0.026 \pm 0.001c$	$731.5 \pm 361.3d$	$341.5 \pm 320.31c$
ACCS / AFOS	$5.20 \pm 0.09bc$	$4.02 \pm 1.07de$	$9.19 \pm 0.03b$	$74.60 \pm 0.21ab$	$0.10 \pm 0.021c$	$18788.5 \pm 639.9b$	$8130 \pm 1271a$
AMCS / ACL	$2.08 \pm 0.02e$	$4.68 \pm 0.24cd$	$2.10 \pm 0.06e$	$78.33 \pm 0.06a$	$7.712 \pm 0.07b$	$101.5 \pm 40.3d$	$30.0 \pm 35.3dc$
AMCS / ACL / ECP	$4.23 \pm 0.14cd$	$25.57 \pm 2.13a$	$1.58 \pm 0.08f$	$73.84 \pm 0.30b$	$0.029 \pm 0.001c$	$118.0 \pm 48.0d$	$41.0 \pm 52.33c$
ACCS / ACL	$3.73 \pm 0.26d$	$18.46 \pm 0.65b$	$13.19 \pm 0.11a$	$74.11 \pm 0.77b$	$0.11 \pm 0.017c$	$251.0 \pm 114.5d$	$123.0 \pm 107.48c$

*Los valores son la media de mediciones por triplicado \pm desviación estándar. ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico, IAA = índice de absorción de agua, ISA = índice de solubilidad en agua, AR = almidón resistente (g / 100g), ΔH = entalpía de gelatinización (J / g), Tg = temperatura de gelatinización (° C), viscosidad final (cP), Viscosidad de retrogradación (cP).°C

En almidón de maíz y AMCS sometidos a proceso de extrusión cocción mostraron diferencia significativa ($P > 0.05$) con los demás tratamientos (Figura 24), este aumento se generó debido a la dextrinación causada en el proceso de extrusión, incrementando el porcentaje de almidón gelatinizado debido a la baja humedad del material y al alto esfuerzo de corte dentro del equipo (Gonzales et al. 2007; Hagenimana et al. 2006, Masatcioglu et al. 2014, Sarawong et al. 2014 y Zhu et al. 2010).

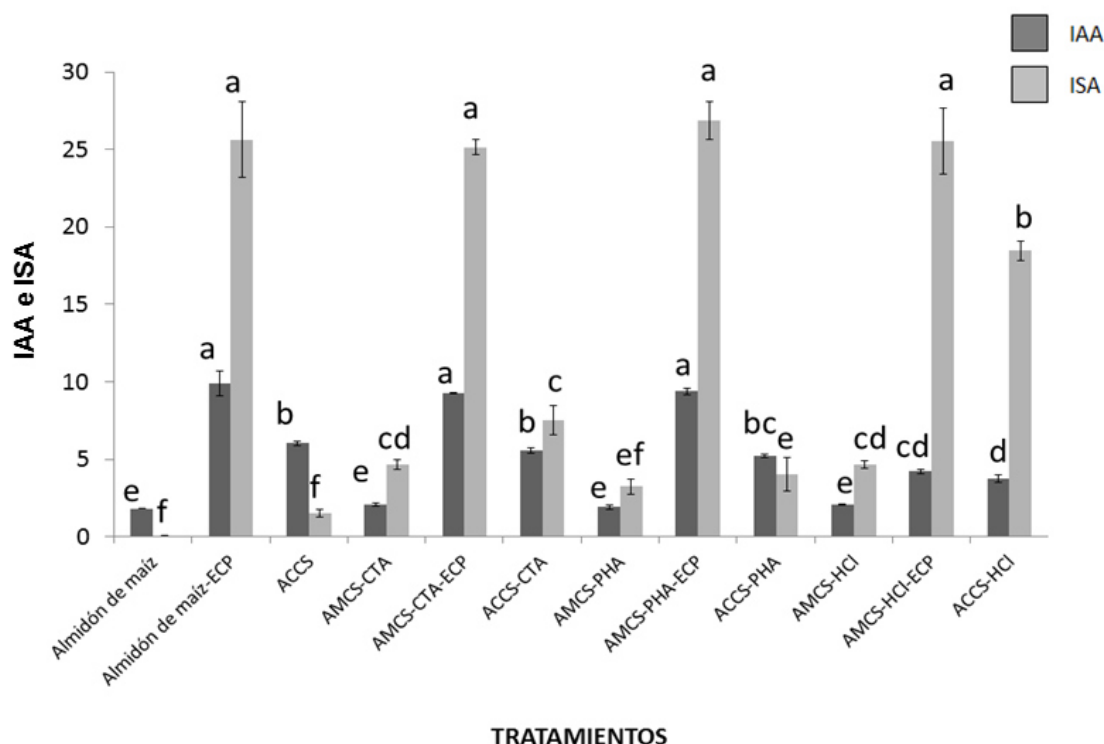


Figura 24. Propiedades físicas: índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA) del almidón de maíz sometido a ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, AMCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.

5.3.3 Análisis térmico de almidones de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS

Los resultados de las propiedades térmicas de almidón nativo de maíz sometido a AMCS, ECP y ACCS se muestran en la tabla 19. Los valores más altos de entalpia fueron para el almidón nativo (9.1 J/g) debido a que no presenta ningún proceso térmico este valor es similar a lo reportado por (Alamri et al., 2013; Jongsutjarittam and Charoenrein, 2014; Masatcioglu et al., 2014; Singh et al., 2003). Este valor de entalpia, indica que se requiere más energía para gelatinizar el almidón (Sandhu and Singh. 2007), seguido de los almidones hidrolizados con ácido cítrico y fosfórico, los cuales no mostraron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ellos (Figura 25). Sin embargo, el almidón hidrolizado con HCl, resultó con un valor menor de entalpia (7.7 J/g) debido al daño durante la hidrolisis la cual ha sido atribuido a una despolimerización de las hélices dentro de los gránulos y en la región amorfa de almidón (Coello et al., 2014; Nakazawa and Wang., 2003; Wang et al., 2003; Wei et al., 2013; Jacobs et al., 1998).

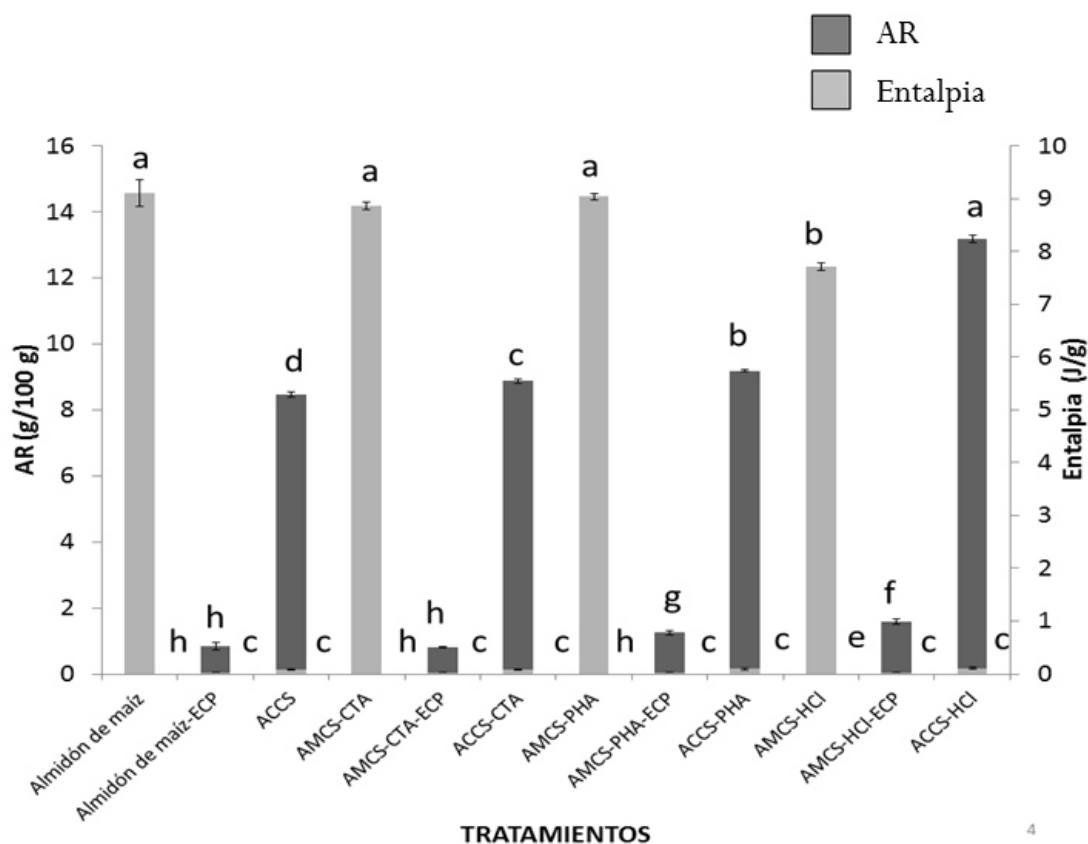


Figura 25. Propiedades fisicoquímicas: almidón resistente (AR) y entalpia del almidón de maíz sometido a ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.

Los valores más bajos de la entalpía fueron para los tratamientos sometidos a extrusión y ciclos de autoclave, lo cual indican que existe una mayor cantidad de almidón gelatinizado en estas harinas es decir, se requiere menos energía para gelatinizar el almidón remanente (Mondragón et al. 2004).

Las harinas extruidas con y sin hidrolisis no mostraron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ellas en sus valores de entalpia, debido posiblemente a que todos los tratamientos se realizaron a la misma temperatura, contenido de humedad y velocidad de tornillo generando bajas entalpias con valores entre 0.02-0.03 J/g, debido a la alta temperatura, alto corte y presión generada por el

extrusor, causando dextrinación de las moléculas de almidón incrementando en el porcentaje de almidón gelatinizado (Gonzales et al., 2007; Hagenimana et al., 2006; Masatcioglu et al., 2014; Parada et al. 2011; Sarawong et al., 2014 y Zhu et al. 2010). De igual forma durante el proceso de autoclave, se obtuvieron valores bajos de entalpia en todos los tratamientos debido al derretimiento de los gránulos de almidón por la alta temperatura y el exceso de humedad, produciendo hinchamiento del granulo y gelatinización del almidón (Hasjim and Jane. 2009).

Almidón resistente de almidón sometido a AMCS, ECP y ACCS.

El almidón resistente es la porción de almidón y productos de almidón que resisten a la digestión en el intestino delgado (Sharma et al., 2008). En la tabla 19, se muestran los valores de AR de almidón nativo, AMCS, ECP y ACCS. El proceso de hidrolisis mediante HCL mostró diferencia significativa ($P < 0.05$) con los demás tratamientos sometidos a hidrolisis, generando una cantidad AR (2.10 g/100g) debido a que durante la hidrolisis ácida se forman cadenas lineales cortas de amilosa y amilopectina, las cuales se re-asociaron durante el secado para formar una estructura resistente a la digestión enzimática (Htoon et al., 2010; Wang et al., 2003), no obstante este valor disminuyó después de ser sometido a extrusión debido a la alta temperatura, esfuerzo de corte y presión generadas por el extrusor rompiendo las cadenas formadas previamente durante la modificación química disminuyendo la cantidad de AR (Agustiano et al., 2005; Faraj et al., 2004 y Masatcioglu et al., 2014). El valor más alto se obtuvo en ACCS con HCl mostrando diferencia significativa ($p < 0.05$) con los demás tratamientos, generando una cantidad AR (13.19 g/100g) resultados similares fue encontrado por Aparicio-Saguilána et al., (2008), Mun and Shin (2006). Este incremento de AR en este almidón se debe a que durante el proceso hidrotérmico existe una fusión de los cristales inestables permitiendo la propagación de los cristales estables al calor (Hasjim and Jane. 2009) generando cadenas lineales cortas, incrementando el movimiento de las moléculas por el exceso de agua, que durante el período de retrogradación, a

baja temperatura, las moléculas de almidón vuelven a asociarse dando lugar nuevas redes estructuras compactas de amilosa-amilosa, amilasa-amilopectina y amilopectina-amilopectina, estabilizadas por enlaces de hidrógeno, generando cristalización de la región amorfa, favoreciendo una incremento en los niveles de AR (Faraj et al., 2004; Htoon et al., 2010; Hung et al., 2016; Kapelko et al., 2012; Koksel et al., 2008, Namratha et al., 2002; Mun and Shin. 2006; Thomson B. 2000; Onyango et al., 2006; Waduge et al., 2006; Wandee et al., 2011; Wang et al 2003).

Propiedades de pasta de almidón sometido a AMCS, ECP y ACCS.

Las propiedades de pasta de almidones sometidos a AMCS, ECP y ACCS se presentan en la tabla 19. Los tratamientos sometidos a ACCS generaron los más altos valores de viscosidad máxima (18788-20842 cP), mostrando diferencia significativa ($p > 0.05$) con los demás tratamientos (Figura 26), debido a la excesiva degradación de los gránulos y al incremento de la solubilidad por efecto de la temperatura y la presión durante el proceso hidrotérmico (Dundar and Gocmen. 2013; Nasrim and Anal. 2014 y Ozturk et al., 2011). El incremento en esta propiedad se debe posiblemente al reordenamiento de las cadenas de almidón durante la retrogradación generada en los ciclos de enfriamiento (Hagenimana et al., 2006) para la formación de AR generando un mayor número de enlaces de hidrogeno en la molécula de almidón, aumentando la viscosidad como resultado de la absorción de agua por el sistema tras la ruptura de los puentes de hidrogeno por el calentamiento incrementándose la viscosidad (Köksel et al. 2008).

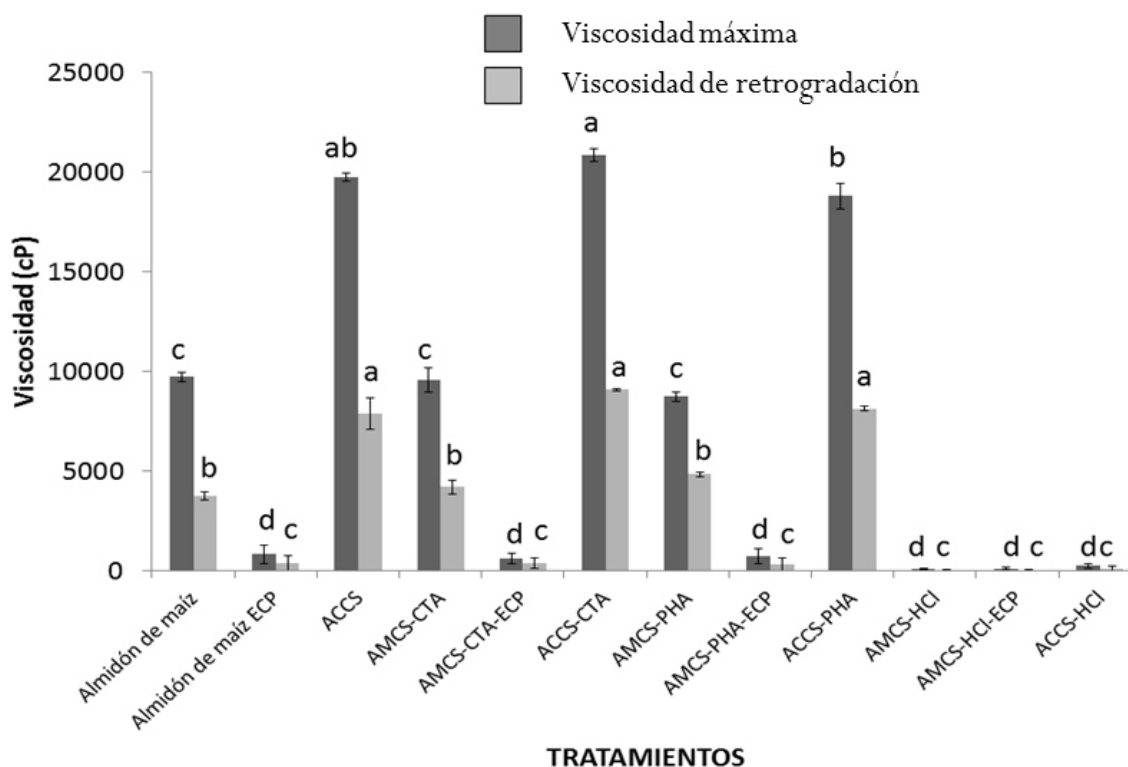


Figura 26. Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a diversos procesamiento ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrólisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.

Las menores viscosidades se obtuvieron de almidones sometidos a proceso de extrusión (118-827 cP) debido a las condiciones del proceso, alta temperatura, bajo contenido de humedad y al esfuerzo de corte del tornillo, generando una excesiva gelatinización y dextrinación de componentes del almidón en moléculas de menor grado de polimerización resultando en una baja viscosidad (Bhattacharya et al., 1999; Hagenimana et al., 2006; Kim et al., 2006; Singh et al., 2003; González et al., 2007). Los tratamientos sometidos a AMCS con CTA and PHA no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) con el almidón de maíz. El tratamiento sometido a hidrólisis con HCl generó una viscosidad menor debido a la reducción de tamaño molecular en la región amorfa de la amilosa causada por la hidrólisis ácida (Chung et al 2003; Jacobs et al., 1998; Nakasawa and Wang. 2003; Köksel et al. 2007; Köksel et al. 2008; Wang et al. 2003). Las tendencias del comportamiento para los diferentes tratamientos para

la viscosidad máxima y viscosidad de retrogradación son observadas en la Figura 27.

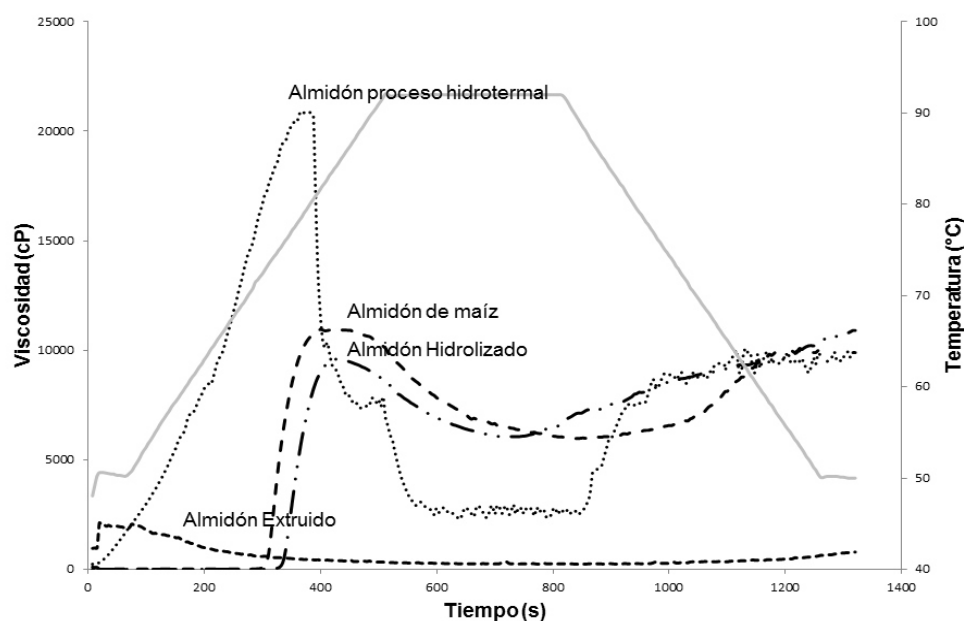


Figura 27. Perfil de viscosidad amilográfica de almidones (RVA) sometidos a diversos procesamiento.

5.3.4 Análisis de perfil de textura (TPA) en geles

Las diferentes propiedades de textura (dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, adhesividad y masticabilidad) en geles elaborados con almidón de maíz sometido AMCS, ACCS and ECP se aprecian en la tabla 20.

La dureza se define como la fuerza necesaria para alcanzar una deformación y se obtiene de la fuerza máxima correspondiente de la primera de las dos compresiones sucesivas (Kim et al., 1996). La dureza más alta se generó en geles sometidos a proceso de ECP-AMSC con CTA and APA incrementan de 0.49 N a valores promedio de 1.37-1.43 N comparado al almidón de maíz (Figure 28), mostrando diferencia significativa ($P < 0.05$) con los demás tratamientos.

Tabla 20. Propiedades textura en almidón de maíz sometido a diferentes procesos

Tratamiento	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Adhesividad (N)	Masticabilidad
Almidón de maíz	0.496 ± 0.142d	0.983 ± 0.017bc	0.536 ± 0.014a	0.266 ± 0.010c	0.358 ± 0.046de	0.260 ± 0.011c
Almidón de maíz EPC	1.329 ± 0.234a	0.998 ± 0.027ab	0.468 ± 0.055b	0.863 ± 0.137a	0.488 ± 0.182bc	0.754 ± 0.165a
ACCS / almidón de maíz	0.93 ± 0.092c	0.978 ± 0.022bc	0.477 ± 0.038ab	0.455 ± 0.038b	0.572 ± 0.035ab	0.447 ± 0.041b
AMCS /ACT	0.504 ± 0.033d	0.952 ± 0.026cde	0.488 ± 0.030ab	0.246 ± 0.024c	0.296 ± 0.030ef	0.235 ± 0.026c
AMCS / ACT / ECP	1.376 ± 0.276a	1.018 ± 0.062a	0.478 ± 0.071ab	0.754 ± 0.194a	0.475 ± 0.185c	0.685 ± 0.126a
ACCS / ACT	1.168 ± 0.160b	0.972 ± 0.029bc	0.438 ± 0.058bc	0.495 ± 0.078b	0.665 ± 0.097a	0.489 ± 0.075b
AMCS / AFOS	0.490 ± 0.055d	0.928 ± 0.027e	0.477 ± 0.019ab	0.233 ± 0.028c	0.249 ± 0.027fg	0.215 ± 0.030c
AMCS/ AFOS / ECP	1.438 ± 0.275a	0.965 ± 0.027cd	0.459 ± 0.037b	0.737 ± 0.259a	0.445 ± 0.147cd	0.770 ± 0.125a
ACCS / AFOS	1.047 ± 0.125bc	0.976 ± 0.022bc	0.481 ± 0.044ab	0.500 ± 0.064b	0.621 ± 0.058a	0.467 ± 0.061b
AMCS / ACL	0.234 ± 0.037e	0.910 ± 0.036cd	0.533 ± 0.050a	0.127 ± 0.028d	0.233 ± 0.104fg	0.119 ± 0.029d
AMCS / ACL / ECP	0.2411 ± 0.077e	0.947 ± 0.039dc	0.389 ± 0.062c	0.080 ± 0.029d	0.149 ± 0.058g	0.066 ± 0.026de
ACCS / ACL	0.1199 ± 0.055e	0.920 ± 0.187e	0.221 ± 0.176d	0.051 ± 0.123d	0.041 ± 0.017h	0.007 ± 0.008e

*Los valores son la media de mediciones por triplicado ± desviación estándar. ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.

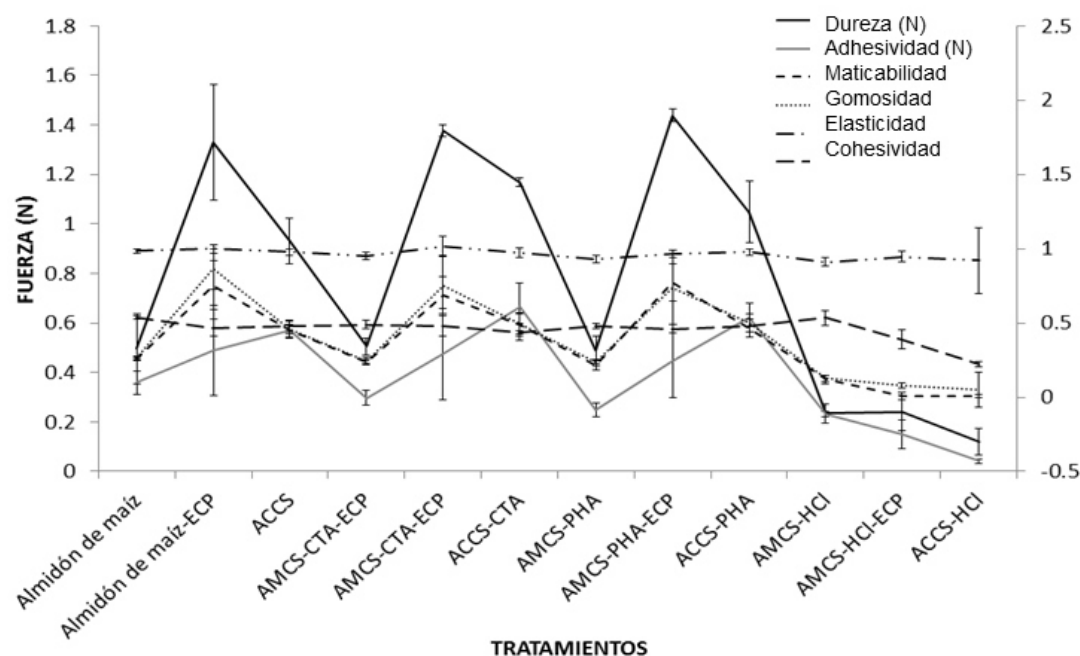


Figura 28. Propiedades de textura en geles de almidón sometidos ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = 3 ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico.

Resultados similares fueron encontrados por Ding et al. (2005) en almidón de arroz, Ding et al. (2006) para harina de trigo, Altan et al. (2008) y Meng et al. (2010) en harinas de cebada y garbanzo respectivamente a condiciones similares de extrusión a las de este estudio a baja velocidad de tornillo y contenidos de humedad. Almidones sometidos a ACCS e AMCS con CTA y PHA incrementaron la dureza a valores (1.04-1.16 N) superiores al almidón de maíz, este incremento se debió posiblemente a la capacidad de retención de agua de las cadenas de almidón y a las moléculas de amilosa con un alto grado de polimerización (Figura 28) que generaron más de una formación de doble hélice dando una nueva estructura al gel formado (Guruya et al., 2001) además

las matrices amorfas del gel de almidón pueden continuar transformándose a una estructura más rígida por el almacenamiento a baja temperatura (Young Park et al., 2009). Resultados similares fueron encontrados por Czuchajowska et al. (1998) en almidones de Garbanzo, frijol y chícharo. La dureza del almidón de maíz AMSC con HCl, sometido a ECP y ACCS disminuyó a valores promedio (0.11-0.24 N), debido al rompimiento de las cadenas de almidón, inhibiendo la retrogradación, resultando en baja fuerza en el gel (Wang and Wang. 2001).

La adhesividad es más una característica de superficie y depende de una combinación del carácter adhesivo y cohesivo del material (Hung et al., 2007). Los cambios en la adhesividad se muestran en la Tabla 20, el procesamiento con ACCS en almidón de maíz y sometido a hidrólisis ácida con CTA y PHA generó el mayor incremento de esta propiedad, 1.8 veces comparado al almidón de maíz observándose diferencia significativa ($P < 0.05$) con los demás tratamientos.

La elasticidad es una percepción de la "gomosidad" del gel en la boca y es una medida de cuánto se descompone la estructura del gel por la compresión inicial (Sanderson. 1990), representa la capacidad de un gel para recuperar su forma y altura original después de quitar la fuerza de deformación del objeto (Young Park et al., 2009). La alta elasticidad aparece cuando la estructura del gel se divide en pocas porciones grandes durante la primera compresión de TPA, mientras que la baja elasticidad resulta del rompimiento del gel en muchas piezas pequeñas (Huang et al., 2007) La mayoría de los tratamientos se encontraron en un rango de 0.91-1.02 (Figure 28), encontrándose los mayores valores en los tratamientos sometidos a proceso de ECP.

La masticabilidad es la cantidad de energía requerida para simular la masticabilidad de una muestra semi-sólida a un estado estable para deglutir (Huang et al., 2007). Almidón de maíz e hidrolizado con ácido cítrico y fosfórico sometidos a ECP incrementaron la masticabilidad, lo que indica que requiere más energía para masticar el gel en su totalidad, estos tratamientos mostraron

diferencia significativa ($P < 0.05$) con los demás (Figure 28). Almidón de maíz sometido a AMCS-CTA y PHA procesado con ACCS incrementaron este parámetro de 0.26 a 0.44. Los tratamientos con menor valor para esta propiedad se generaron en almidón de maíz sometido a AMSC-HCl y procesado mediante ECP y ACCS (0.007-0.119), la masticabilidad se relaciona con la baja viscosidad generada en prueba de pasta y altos WSI.

5.3.5 Análisis microestructural

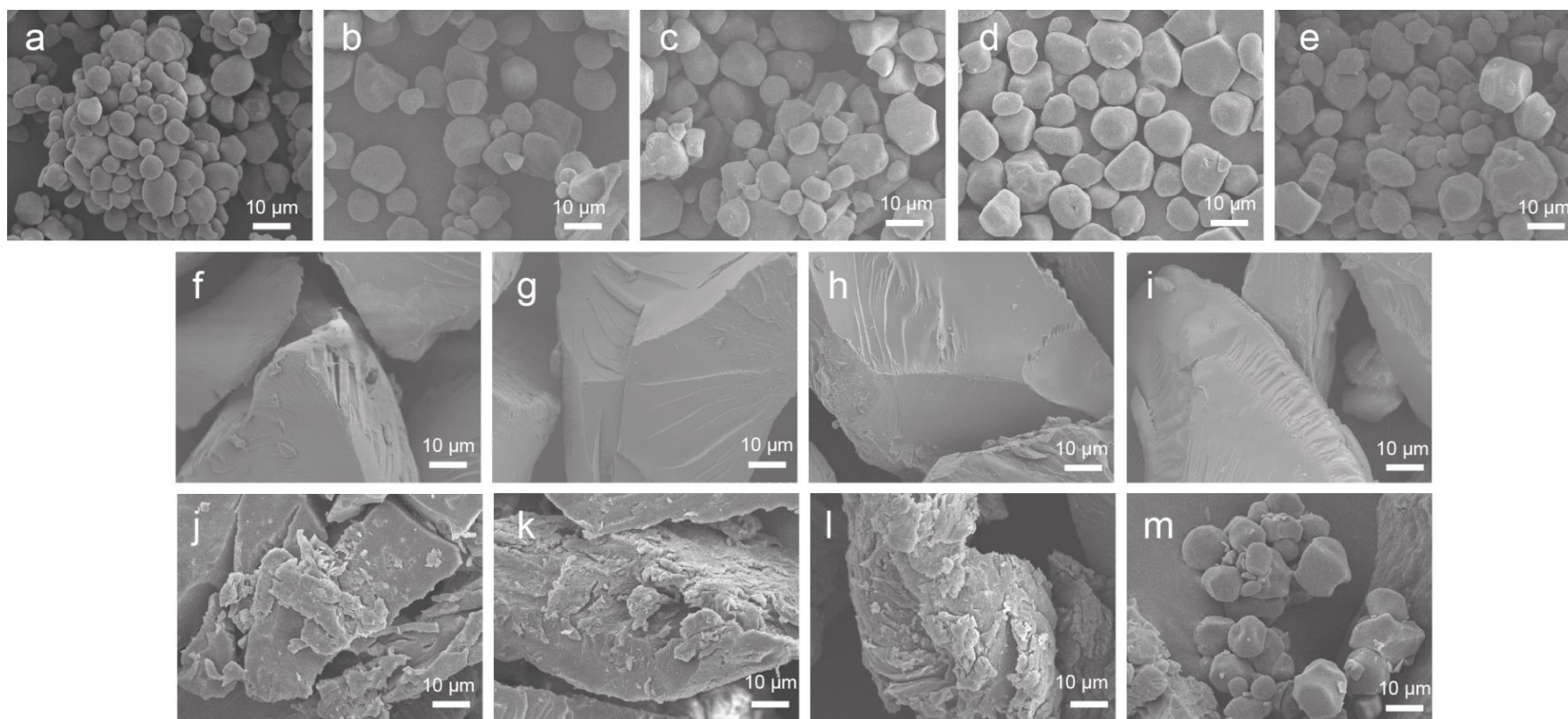
En las Figuras 29b se muestra los gránulos de almidón maíz nativo, con una forma redonda, elíptica con superficies lisa, sin defectos evidentes o signos de daños en la superficie con un tamaño aproximado de 12 μm (Fannon et al., 1992; Gonzales et al., 2006; López et al., 2007; Koo et al., 2010; Singh et al., 2003). Las Figura 29a muestra un estándar de almidón resistente del kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd. Co. Wicklow, Ireland) con 52 %, en la cual se aprecia una aglomeración compacta de 50 o más gránulos con un tamaño que varía entre 20 y 40 μm . En la Figura 29c se muestra almidón hidrolizado con ácido cítrico, el cual mantiene su forma redonda, elíptica sin daños en la superficie, lo mismo se aprecia para el tratamiento con ácido fosfórico Figuras 29d, lo anterior posiblemente a poco tiempo de exposición (López-Linares et al., 2013; Nair et al., 2016). En las Figura 29e se muestra almidón de maíz hidrolizado con ácido clorhídrico apreciando después de un periodo corto de hidrolisis un daño de la estructura superficial granular del almidón presentando una erosión y deformación de esta. Resultados similares fueron obtenidos por Coello et al. (2014); Wei et al. (2013).

Sin embargo en las Figuras 29f-i se muestra como la estructura granular del almidón nativo fue destruida después de ser sometida al proceso de extrusión, como consecuencia de las altas temperaturas, esfuerzos mecánicos y alta presión generando gelatinización y dextrinación del almidón (Reddy et al., 2014; Faraj et al., 2004; and Vasanthan et al., 2002; Martínez-Bustos et al., 1998). El principal mecanismo de la fragmentación durante el proceso de extrusión es la dextrinación que conduce a la pérdida de aspecto granular del

almidón a una forma irregular como consecuencia de la gelatinización, formando estructuras amorfas (Kim et al., 2006; Sing et al., 2003; Parada et al., 2011). Estos resultados se relacionan con las propiedades térmicas y reológicas debido a las disminuciones de la entalpia y la nula viscosidad compradas con el almidón nativo.

Durante el proceso de autoclave el almidón sufrió hinchamiento en su estructura por encontrarse en exceso de agua y al incremento de la temperatura, debido a esto generó una estructura irregular plegadiza para finalmente perder por completo su forma (Mángala et al., 1999). En la Figura 29j-m se muestran los almidones hidrolizados con los diferentes ácidos sometidos a ciclos de autoclave (120°C por 1h) y enfriamiento (4°C por 24 h) donde el AR se observa como una estructura tipo esponja en el interior del almidón con una estructura poligonal con pequeños espacios entre los gránulos de almidón, revelando los efectos de la retrogradación en la estructura del gránulo (Escarpa et al., 1996; Reddy et al., 2013; Reddy et al., 2014), mostrando mayor nucleación, con la recristianización del almidón gelatinizado, reorganizando las moléculas de amilosa y amilopectina (Hsu et al., 2015; Shi et al., 2013; Zhou et al., 2014), en una forma alargada y una estructura laminar compacta (Zhang et al., 2011) o una red de filamentos generada por la retrogradación del almidón (Pongjanta et al., 2010). En el caso de tratamiento con HCl (Figura 28m) se observan aglomeraciones de gránulos de almidón similares a las presentadas en el estándar comercial de la marca Megazyme con un porcentaje de 52 % de AR confirmando la alta formación de AR. En resumen los tratamientos con los valores más altos de IAA se observaron en el proceso de extrusión-cocción (ECP) seguido de los procesados mediante hidrolisis y ciclos de autoclave (ACCS) y finalmente los sometidos a hidrolisis ácida (AMCS), una tendencia similar fue observada para el parámetro de ISA. Los valores más altos en la propiedad de pasta (viscosidad máxima) se observó en los tratamientos sometidos a hidrolisis y ciclos de autoclave (ACCS) seguidos de los tratamientos a hidrolisis (AMCS) y finalmente los sometidos a extrusión-cocción (ECP), esta tendencia se relaciona con la formación de almidón resistente encontrando el mejor tratamiento para

la formación de almidón resistente (AR) al utilizar almidón de maíz hidrolizado con HCl sometido a ciclos de autoclave e inflamamiento (ACCS) obteniendo un nivel máximo de 13.19 g/100 g de muestra, correspondiente a un aumento de casi 20 veces el valor del almidón nativo, pero debido al procesamiento la entalpía disminuyó a valores de 0.08-0.11 J/g valor inferior comparado con el almidón nativo (9.10 J/g), y observándose una estructura similar al estándar de AR con un 52% en este tratamiento (HCl), con aglomeraciones de almidón de tamaño aproximado de 30 μm . una vez definido el mejor tratamiento de producción de AR se procedió a realizar un estudio en vivo para evaluar sus propiedades en los parámetros clínicos de reducción de glucosa, triglicéridos y colesterol.



68 **Figura 29.** Análisis microestructural de almidones modificados (1500x). ECP = proceso de extrusión cocción, AMCS = hidrolisis de almidón de maíz, ACCS = ciclos de autoclave (120°C) y almacenamiento a baja temperatura (3 días/4 °C), ACT = ácido cítrico, AFOS = ácido fosfórico, ACL = ácido clorhídrico, (a) estándar de almidón resistente 52%, (b) almidón de maíz, (c) AMCS/ACT, (d) AMCS/AFOS (e) AMCS/ACL, (f) ECP/almidón de maíz, (g) ECP/AMCS/ACT, , (h) ECP/AMCS/AFOS, (i) ECP/AMCS/ACL, (j) ACCS/almidón de maíz, (k) ACCS/AMCS/ACT, (l) ACCS/AMCS/AFOS. (m) ACCS/AMCS/ACL.

5.4 Etapa 4. Evaluación de dietas con sustitución de AR en un modelo animal.

5.4.1 Estudio in vivo

El estudio in vivo realizado para la evaluación del efecto de la adición de almidón resistente en la dieta en ratas wistar, se desarrolló con individuos de 1.5 meses de edad, bajo condiciones estándar (jaulas individuales, $20^{\circ}\text{C} \pm 2$, 12h luz / 12h oscuridad, alimentación (20g/día) y agua (ad libitum)). Se alimentó a las ratas wistar con las dietas experimentales (Tabla 14), tomando muestras de sangre durante 45 días (día 0, 15, 30 y 45). Para la sustitución de carbohidratos (almidón nativo) en la dieta control se utilizó almidón modificado por proceso de ciclos de autoclave y enfriamiento con una cantidad de 13.1 g/100g de AR, fibra soluble de 0.03%, fibra insoluble del 5.40% y 5.69% de fibra dietaría.

5.4.2 Análisis proximal

Se presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la dieta control con las dietas 1 y 2 para fibra insoluble y dietaría debido a la presencia de AR en la sustitución de carbohidratos (almidón de maíz) en las dos formulaciones, incrementando la cantidad de fibra dietaría en ambas dietas. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la dieta control con las dietas 1 y 2 para los valores de proteína, fibra cruda, extracto eterio y fibra soluble debido a que solo se modificó la fracción de almidón en estas últimas, manteniendo constantes los demás ingredientes de la formulación. Los valores de los parámetros proximales de la dieta control son similares a lo reportado por (Amaya-Guerra et al., 2004) para una dieta balanceada de caseína purificada.

Se observa que al incrementar la sustitución de AR se produce un aumento en el contenido de fibra insoluble, presentándose el mayor contenido de fibra en la dieta 2 con un valor de 11.87 %.

Tabla 21. Análisis proximal de dietas suministradas durante el bioensayo.

Parámetro	Dieta control	Dieta 1	Dieta 2
Humedad (%)	6.63 ± 0.15b	7.06 ± 0.04 ^a	6.52 ± 0.08b
Extracto etéreo (%)	2.10 ± 0.02a	2.57 ± 0.09 ^a	2.19 ± 0.02a
Proteína (%)	15.79 ± 0.24a	16.62 ± 0.07 ^a	16.13 ± 0.61a
Cenizas (%)	2.84 ± 0.17c	4.45 ± 0.04b	5.13 ± 0.01a
Fibra cruda (%)	2.54 ± 0.47a	2.63 ± 0.31 ^a	2.81 ± 0.32a
ENL (%)	70.24 ± 0.54a	66.57 ± 0.32b	67.18 ± 0.30b
Fibra soluble (%)	0.24 ± 0.06a	0.22 ± 0.06 ^a	0.23 ± 0.08a
Fibra insoluble (%)	6.58 ± 0.16c	9.44 ± 0.18b	11.640 ± 0.41a
Fibra dietaria (%)	6.82 ± 0.09c	9.67 ± 0.25b	11.872 ± 0.34a
ED (kcal)	362.42 ± 1.86a	356.63 ± 0.839b	353.04 ± 2.02b

Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Valores con letra diferentes por fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$), mediante prueba de Tukey. ELN: extracto libre de nitrógeno. ED: energía digestible = (%ELN * 4kcal/g) + (% proteína * 4kcal/g) + (%extracto etéreo * 9kcal/g).

5.4.3 Determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre

Se realizó una prueba biológica con las diferentes dietas con y sin adición de AR, para evaluar el efecto del consumo de dichas dietas sobre propiedades específicas como glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre, utilizando como modelo animal ratas wistar de un mes de edad. El efecto del consumo de las diferentes dietas con sustitución con AR sobre el colesterol (Figura 26a) muestra que no existió diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, pero se aprecia una tendencia a bajar en para los resultados de los efectos principales de las dietas con sustitución de AR. Esto puede ser el efecto del consumo de dietas altas en fibra dietaria relacionada con la reducción de los niveles de colesterol, debido a la degradación producida por las bacterias presentes en el intestino aumentando la producción de ácidos grasos volátiles en el ciego que después de la absorción resultan en una reducción de actividades de las enzimas reguladoras de la síntesis de ácidos grasos (Morand et al. 1994). Además los efectos secundarios de la fibra de reducir los niveles

de colesterol se han asociado a alteraciones en el metabolismo del colesterol hepático y lipoproteínas endógenas (Fernández et al., 2000), eventualmente reduce el peso corporal en dietas superiores al 16% de AR (Belobrajdic et al., 2012).

La Figura 26b muestra el resultado del consumo de las diferentes dietas con sustitución con AR sobre el contenido de triglicéridos, observando que no existe diferencia significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, los valores de triglicéridos determinados se encuentran en el rango descrito por (Poveda et al. 2015) entre 90-120mg/dL, pero se aprecia una pequeña tendencia a bajar los niveles de triglicéridos en las dietas con sustitución de AR entre mayor sea el contenido. Martínez-Flores et al. (2004), reportan una disminución del contenido de lípidos en dietas con altos niveles de AR superiores al 30% posiblemente debido a que los AR disminuyen la masa del tejido adiposo reduciendo la concentración de ácido graso libre como resultado de la síntesis de triglicéridos en el hígado (Belobrajdic et al., 2012; Deckere et al., 1994).

La Figura 26c muestra el efecto del consumo de las diferentes dietas con sustitución con AR sobre el contenido de glucosa en sangre, los resultados mostraron que no existió diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las dietas suministradas, aunque durante el tiempo de consumo no se encontraron diferencias significativas, el menor contenido de glucosa fue encontrado en las ratas alimentadas con la dieta con mayor cantidad de AR, lo que puede indicar efecto del consumo de AR sobre el nivel de glucosa en sangre.

La disminución en la glucosa es ligera ya que el contenido de fibra soluble es poco en comparación con la administrada en otros estudios, la FAO recomienda para que este sea capaz de producir efectos fisiológicos benéficos en la salud un consumo de 3 g/día y Dhingra et al. (2012) una cantidad de 20-35g diarios de fibra dietaria en adultos sanos, Martínez-Flores et al. (2004) y Srikaeo and Sangkhiaw. (2014) reportan que dietas con cantidades de 30-60% de AR logran la disminución del índice glicémico.

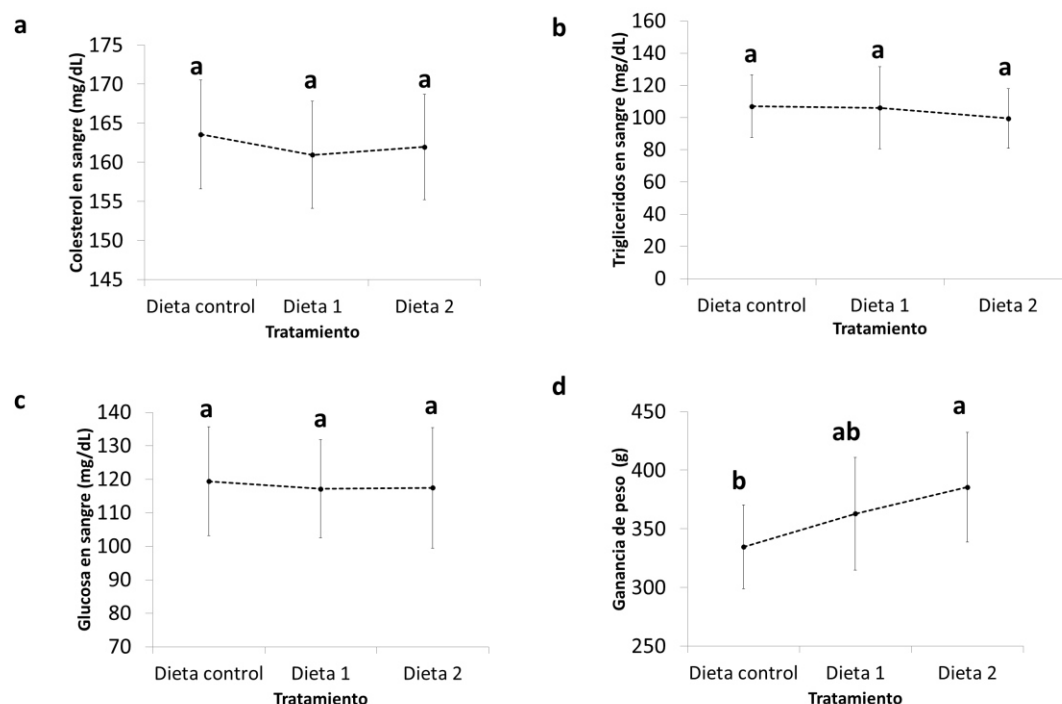


Figura 30. Grafica de efectos principales para: (a) colesterol en sangre, (b) triglicéridos en sangre, (c) Glucosa en sangre, (d) ganancia de peso, en ratas wistar alimentadas durante 45 con los diferentes tratamientos.

Aun así esta pequeñas disminución son atribuidas al consumo de AR en la dieta (Brites et al., 2011 y Charrier et al., 2013), debido a que el almidón resistente tiene efectos fisiológicos similares a la fibra soluble ya que esta no es digerible en el intestino delgado (Fernández and Vergara-Jiménez, 2000; Haralampu, 2000), teniendo efecto inhibitorio sobre aumento postprandial en sangre (Kwak et al., 201). El AR llega al colon para ser fermentado por microorganismos benéficos produciendo ácidos grasos de cadena corta aumentando la masa

fecal reduciendo el pH del colon, sin incrementar la glucosa en sangre (Brites et al., 2011; Dundar and Gocmen. 2013, Englyst et al., 1996; Faraj et al., 2004).

Durante la producción de AR el fenómeno de retrogradación se llevó acabo, generando mayor nucleación de las moléculas de almidón, disminuyendo su digestibilidad promoviendo un control de los niveles de glucosa (Gee and Johnson, 1990; Hsu et al., 2015; Shi and Gao, 2011), debido a que el AR es un ingrediente no calórico, no contribuye a aumentar la glucosa en sangre, por lo tanto, el consumo de una dieta rica en AR es ventajoso para su disminución (Vasanthan and Saskatoon, 1998), no así el almidón normal, debido a que posee mayor cantidad de elementos aptos para ser digeridos con una velocidad de hidrólisis mayor (Kim et al., 2003 y Pongjanta et al., 2008).

Además de que ha sido reportado que el efecto fisiológico del consumo de productos con fibra soluble no solo depende de la dosis consumida sino también de forma en la que se presenta el alimento.

Finalmente se muestra en la Figura 26d el efecto del consumo de las diferentes dietas con sustitución con AR sobre el sobre el incremento de peso, encontrando diferencia significativa ($P < 0.05$) entre la dieta control y la dieta con mayor cantidad de AR, resultados similares fueron encontrados por Martínez-Flores et al. (2004) y Yonekura and Suzuki. (2004) quienes al incrementar la cantidad de AR en las dietas encontraron una disminución de este parámetro.

En resumen el consumo de dietas balanceadas con adición de diferentes niveles de almidón resistente (AR), no mostraron deferencia significativa ($P > 0.05$) en los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas wistar a los 45 días de consumo comparadas con la dieta control, sin embargo mostraron una ligera tendencia a bajar estos niveles entre mayor sustitución de AR (de 6.5 a 8.45 %) presente en la dieta

VI CONCLUSIONES

El efecto de la extrusión-cocción en el almidón nativo de maíz generó cambios en sus propiedades incrementando el IAA como el ISA, disminuyendo la entalpía de gelatinización además de generar un aumento en la cantidad de AR a un nivel de 1.13 g/100 g de muestra, a una condición de proceso de: 120 °C, 35 % de contenido de humedad y una velocidad de tornillo de 240 rpm.

La adición de diferentes concentraciones de ácido cítrico, durante el proceso de extrusión-cocción en condiciones optimizadas no generó cambios significativos en el incremento de almidón resistente, comparada a una extrusión sin adición de ácido cítrico. Se generó una cantidad máxima de 1.15 g/100 g de muestra a una temperatura de 130 °C, 18% de contenido de humedad y una concentración de 5.2% de ácido cítrico.

El proceso de hidrolisis ácida en almidón de maíz causó incremento en la cantidad de almidón resistente, logrando un mayor rendimiento al utilizar HCl, obteniendo una cantidad de almidón resistente de 2.10 g/100 g de muestra después de la hidrolisis. El proceso de extrusión-cocción en almidones hidrolizados causó una disminución en la cantidad de almidón resistente alcanzando después del proceso de hidrolisis, disminuyendo un valor de 1.68 g/100 g de muestra.

El efecto de la retrogradación en almidones hidrolizados sometidos a ciclos de autoclave-enfriamiento incrementó en gran medida la cantidad de almidón resistente, generando un valor máximo de 13.19 g/100 g de muestra para el tratamiento sometido a hidrolisis con HCl, correspondiente a un aumento de casi 20 veces el valor del almidón nativo y un rango promedio de 8-9 g/100 g para los tratamientos con ácido fosfórico y ácido cítrico.

La sustitución de almidón nativo de maíz por almidón con 13% de AR en dietas balanceadas para la realización del ensayo in vivo en un modelo animal con ratas Wistar incremento la fibra dietaria de un 6% a un 12% en el tratamiento con mayor sustitución de AR (dieta 2).

El consumo de dietas balanceadas con adición de almidón resistente, no mostraron diferencia significativa en los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas wistar a los 45 días de consumo comparadas con la dieta control, sin embargo mostraron una ligera tendencia a bajar estos niveles entre mayor sustitución de AR presente en la dieta.

VII REFERENCIAS

- Agustiniano - Osornio, J. C., González - Soto, R. A., Flores - Huicochea, E., Manrique - Quevedo, N., Sánchez - Hernández, L., & Bello - Pérez, L. A. (2005). Resistant starch production from mango starch using a single - screw extruder. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2105-2110.
- Alamri, M. S., Mohamed, A. A., & Hussain, S. (2013). Effects of alkaline-soluble okra gum on rheological and thermal properties of systems with wheat or corn starch. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 541-551.
- Alamri, M. S., Mohamed, A. A., & Hussain, S. (2013). Effects of alkaline-soluble okra gum on rheological and thermal properties of systems with wheat or corn starch. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 541-551.
- Amaya-Guerra, C. A., Alanis-Guzman, M. G., & Saldivar, S. O. S. (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular and quality protein maize. *Plant foods for human nutrition*, 59(2), 45-50.
- Amaya-Guerra, C.A. 2003 Efecto de la fortificación y enriquecimiento de tortillas regulares y de maíz de alta calidad proteica en el desarrollo fisiológico, cerebral y desempeño en el aprendizaje de ratas de laboratorio. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Anderson, R. A., Conway, H. F., Pfeifer, V. F., & Griffin, E. L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, 14(1), 4.
- Anderson, R. A., Conway, H. F., Pfeifer, V. F., & Griffin, E. L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, 14(1), 4.
- AOAC (1998). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Gaithersburg, Maryland: AOAC.
- Aparicio - Saguilán, A., Flores - Huicochea, E., Tovar, J., García - Suárez, F., Gutiérrez - Meraz, F., & Bello - Pérez, L. A. (2005). Resistant Starch-rich Powders Prepared by Autoclaving of Native and Lintnerized Banana Starch: Partial Characterization. *Starch - Stärke*, 57(9), 405-412.
- Aparicio-Saguilán, A., Sayago-Ayerdi, S. G., Vargas-Torres, A., Tovar, J., Ascencio-Otero, T. E., & Bello-Pérez, L. A. (2007). Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3), 175-181.
- Badui Dergal, S., Valdés Martínez, S. E., & Cejudo Gómez, H. (2006). *Química de los alimentos* (No. TX545. B3 2006).
- Bang, M., Kim, H. A., & Cho, Y. J. (2009). Alterations in the blood glucose, serum lipids and renal oxidative stress in diabetic rats by supplementation of onion (*Allium cepa*. Linn). *Nutrition research and practice*, 3(3), 242-246.
- Bello-Perez, L. A., Gonzalez-Soto, R. A., Sanchez-Rivero, M. M., Gutierrez-Meraz, F., & Vargas-Torres, A. (2006). Extrusion of starches from non-conventional sources for resistant starch production. *Agrociencia*.
- Bhatnagar, S., & Hanna, M. A. (1994). Amylose-lipid complex formation during single-screw extrusion of various corn starches. *Cereal Chemistry*, 71(6), 582-586.
- Bhattacharya, S., Sudha, M. L., & Rahim, A. (1999). Pasting characteristics of an extruded blend of potato and wheat flours. *Journal of Food Engineering*, 40(1), 107-111.
- Bird, A. R., Brown, I. L., & Topping, D. L. (2000). Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Current issues in intestinal microbiology*, 1(1), 25-37.

Brites, C. M., Trigo, M. J., Carrapiço, B., Alviña, M., & Bessa, R. J. (2011). Maize and resistant starch enriched breads reduce postprandial glycemic responses in rats. *Nutrition Research*, 31(4), 302-308.

Buckow, R., Heinz, V., & Knorr, D. (2007). High pressure phase transition kinetics of maize starch. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 469-475.

CFW, (2001). The Definition of Dietary Fiber - American Association of Cereal Chemists (AACC) International, 43, 112-126.

Chanvrier, H., Uthayakumaran, S., Appelqvist, I. A., Gidley, M. J., Gilbert, E. P., & López-Rubio, A. (2007). Influence of storage conditions on the structure, thermal behavior, and formation of enzyme-resistant starch in extruded starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24), 9883-9890.

Charrier, J. A., Martin, R. J., McCutcheon, K. L., Raggio, A. M., Goldsmith, F., Goita, M. F., ... & Finley, J. (2013). High fat diet partially attenuates fermentation responses in rats fed resistant starch from high - amylose maize. *Obesity*, 21(11), 2350-2355.

Chokshi, R., & Zia, H. (2010). Hot-melt extrusion technique: a review. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3-16.

Chung, H. J., Hoover, R., & Liu, Q. (2009). The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *International journal of biological macromolecules*, 44(2), 203-210.

Chung, H. J., Jeong, H. Y., & Lim, S. T. (2003). Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 54(4), 449-455.

Cieśla, K., & Eliasson, A. C. (2007). DSC studies of retrogradation and amylose-lipid complex transition taking place in gamma irradiated wheat starch. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 265(1), 399-405.

Clerici, M. T. P. S. (2012). Physical and/or chemical modifications of starch by thermoplastic extrusion. InTechopen, Brazil.

Cortés-Ceballos, E., Pérez-Carrillo, E., & Serna-Saldívar, S. O. (2015). Addition of Sodium Stearoyl Lactylate to Corn and Sorghum Starch Extrudates Enhances the Performance of Pregelatinized Beer Adjuncts. *Cereal Chemistry*, 92(1), 88-92.

da Rosa Zavareze, E., & Dias, A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 317-328.

De Deckere, E. A., Kloots, W. J., & Van Amelsvoort, J. M. (1993). Resistant starch decreases serum total cholesterol and triacylglycerol concentrations in rats. *Journal of Nutrition*, 123(12), 2142-2151.

DeSesso, J. M., & Jacobson, C. F. (2001). Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39(3), 209-228.

Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of food science and technology*, 49(3), 255-266.

Dundar, A. N., & Gocmen, D. (2013). Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydrate polymers*, 97(2), 764-771.

Dust, J. M., Gajda, A. M., Flickinger, E. A., Burkhalter, T. M., Merchen, N. R., & Fahey, G. C. (2004). Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of select food ingredients. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(10), 2989-2996.

- El-Dash, A. A., Gonzales, R., & Ciol, M. (1983). Response surface methodology in the control of thermoplastic extrusion of starch. *Journal of Food Engineering*, 2(2), 129-152.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European journal of clinical nutrition*, 46, S33-50.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., Hudson, G. J., & Cummings, J. H. (1996). Measurement of resistant starch in vitro and in vivo. *British Journal of Nutrition*, 75(05), 749-755.
- Escarpa, A., González, M. C., Manas, E., Garcia-Diz, L., & Saura-Calixto, F. (1996). Resistant starch formation: Standardization of a high-pressure autoclave process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 924-928.
- Fannon, J. E., Hauber, R. J., & BeMiller, J. N. (1992). Surface pores of starch granules. *Cereal Chem*, 69(3), 284-288.
- Faraj, A., Vasanthan, T., & Hoover, R. (2004). The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International*, 37(5), 517-525.
- Fernandez, M. L., Roy, S., & Vergara-Jimenez, M. (2000). Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutrition research*, 20(6), 837-849.
- Fitch-Vargas, P. R., Aguilar-Palazuelos, E., Jesús Zazueta-Morales, J., Vega-García, M. O., Valdez-Morales, J. E., Martínez-Bustos, F., & Jacobo-Valenzuela, N. (2016). Physicochemical and Microstructural Characterization of Corn Starch Edible Films Obtained by a Combination of Extrusion Technology and Casting Technique. *Journal of Food Science*, 81(9).
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4), 931-942.
- Gee, J. M., Faulks, R. M., & Johnson, I. T. (1991). Physiological effects of retrograded, alpha-amylase-resistant cornstarch in rats. *The Journal of nutrition*, 121(1), 44-49.
- Gill, S., Vasanthan, T., Ooraikul, B., & Rossnagel, B. (2002). Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *Journal of cereal Science*, 36(2), 219-237.
- Gomez, M. H., & Aguilera, J. M. (1984). A physicochemical model for extrusion of corn starch. *Journal of Food Science*, 49(1), 40-43.
- Gómez - Moriel, C. B., Quintero - Ramos, A., Camacho - Dávila, A., Ruiz - Gutiérrez, M. G., Talamás - Abbud, R., Olivas - Vargas, R., & Barnard, J. (2012). Optimization of chipotle pepper smoking process using response surface methodology. *Journal of Food Quality*, 35(1), 21-33.
- Goñi, I., Garcia-Diz, L., Mañas, E., & Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food chemistry*, 56(4), 445-449.
- González - Soto, R. A., Mora - Escobedo, R., Hernández - Sánchez, H., Sánchez - Rivera, M., & Bello - Pérez, L. A. (2007). Extrusion of banana starch: characterization of the extrudates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(2), 348-356.
- Gonzalez-Soto, R. A., Sanchez-Hernandez, L., Solorza-Feria, J., Nunez-Santiago, C., Flores-Huicochea, E., & Bello-Perez, L. A. (2006). Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. *Food science and technology international*, 12(1), 5-11.
- Hagenimana, A., Ding, X., & Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 38-46.

Haralampu, S. G. (2000). Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS 3. *Carbohydrate polymers*, 41(3), 285-292.

Harper, J. 1989 Foods extruders and their applications. In "Extrusion Cooking". American association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, EUA. Pp. 1-15

Hasjim, J., & Jane, J. L. (2009). Production of Resistant Starch by Extrusion Cooking of Acid - Modified Normal - Maize Starch. *Journal of food science*, 74(7), C556-C562.

Hernandez-Diaz, J. R., Quintero-Ramos, A., Barnard, J., & Balandran-Quintana, R. R. (2007). Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Science and Technology International*, 13(4), 301-308.

Hoover, R., & Manuel, H. (1996). The effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylo maize V starches. *Journal of Cereal Science*, 23(2), 153-162.

Hsu, R. J. C., Chen, H. J., Lu, S., & Chiang, W. (2015). Effects of cooking, retrogradation and drying on starch digestibility in instant rice making. *Journal of Cereal Science*, 65, 154-161.

Htoon, A. K., Uthayakumaran, S., Piyasiri, U., Appelqvist, I. A., López-Rubio, A., Gilbert, E. P., & Mulder, R. J. (2010). The effect of acid dextrinisation on enzyme-resistant starch content in extruded maize starch. *Food chemistry*, 120(1), 140-149.

Hylla, S., Gostner, A., Dusel, G., Anger, H., Bartram, H. P., Christl, S. U., ... & Scheppach, W. (1998). Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. *The American journal of clinical nutrition*, 67(1), 136-142.

Jackson, D. S., Gomez, M. H., Waniska, R. D., & Rooney, L. W. (1990). Effects of single-screw extrusion cooking on starch as measured by aqueous high-performance size-exclusion chromatography. *Cereal Chem*, 67(6), 529-532.

Jacobs, H., Eerlingen, R. C., Rouseu, N., Colonna, P., & Delcour, J. A. (1998). Acid hydrolysis of native and annealed wheat, potato and pea starches—DSC melting features and chain length distributions of lintnerised starches. *Carbohydrate research*, 308(3), 359-371.

Jenkins, A. L., Jenkins, D. J., Zdravkovic, U., Würsch, P., & Vuksan, V. (2002). Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(7), 622-628.

Jongsutjarittam, O., & Charoenrein, S. (2014). The effect of moisture content on physicochemical properties of extruded waxy and non-waxy rice flour. *Carbohydrate polymers*, 114, 133-140.

Jozinović, A., Šubarić, D., Ačkar, Đ., Babić, J., & Miličević, B. (2016). Influence of spelt flour addition on properties of extruded products based on corn grits. *Journal of food engineering*, 172, 31-37.

Kaletunc, G. O. N. U. L., & Breslauer, K. J. (1993). Glass transitions of extrudates: relationship with processing-induced fragmentation and end-product attributes. *Cereal Chemistry*, 70, 548-548.

Kapelko, M., Zięba, T., Golachowski, A., & Gryszkin, A. (2012). Effect of the production method on the properties of RS3/RS4 type resistant starch. Part 1: Properties of retrograded starch (RS3) produced under various conditions and its susceptibility to acetylation. *Food chemistry*, 135(3), 1494-1504.

Karim, A. A., Norziah, M. H., & Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food chemistry*, 71(1), 9-36.

Kim, J. H., Tanhehco, E. J., & Ng, P. K. W. (2006). Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food chemistry*, 99(4), 718-723.

- Kim, W. K., Chung, M. K., Kang, N. E., Kim, M. H., & Park, O. J. (2003). Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 14(3), 166-172.
- Köksel, H., Basman, A., Kahraman, K., & Ozturk, S. (2007). Effect of acid modification and heat treatments on resistant starch formation and functional properties of corn starch. *International Journal of Food Properties*, 10(4), 691-702.
- Köksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S., & Basman, A. (2008). Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *Journal of Cereal Science*, 47(2), 275-282.
- Koo, S. H., Lee, K. Y., & Lee, H. G. (2010). Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 24(6), 619-625.
- Kumari, M., Urooj, A., & Prasad, N. N. (2007). Effect of storage on resistant starch and amylose content of cereal-pulse based ready-to-eat commercial products. *Food chemistry*, 102(4), 1425-1430.
- Kwak, J. H., Paik, J. K., Kim, H. I., Kim, O. Y., Shin, D. Y., Kim, H. J., ... & Lee, J. H. (2012). Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidative stress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 224(2), 457-464.
- Kwak, J. H., Paik, J. K., Kim, H. I., Kim, O. Y., Shin, D. Y., Kim, H. J., ... & Lee, J. H. (2012). Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidative stress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 224(2), 457-464.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion.(A review). *Biotechnology progress*, 7(3), 251-266.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion.(A review). *Biotechnology progress*, 7(3), 251-266.
- Landon, S., CoLyer, C. G. B., & SaLman, H. The Resistant Starch Report.
- LAREDO, A., & PENSABEN-ESQUIVEL, M. (2002). Low temperature blanching of frozen carrots with calcium chloride solutions at different holding times on texture of frozen carrots. *Journal of food processing and preservation*, 26, 361-374.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., & Izydorczyk, M. S. (2003). Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. *Food Hydrocolloids*, 17(5), 693-712.
- Lazou, A., & Krokida, M. (2010). Structural and textural characterization of corn-lentil extruded snacks. *Journal of Food Engineering*, 100(3), 392-408.
- Lehmann, U., Jacobasch, G., & Schmiedl, D. (2002). Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(18), 5236-5240.
- Liu, H., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2007). Retrogradation of corn starch after thermal treatment at different temperatures. *Carbohydrate polymers*, 69(4), 756-762.
- López-Linares, J. C., Cara, C., Moya, M., Ruiz, E., Castro, E., & Romero, I. (2013). Fermentable sugar production from rapeseed straw by dilute phosphoric acid pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 50, 525-531.
- Lopez-Rubio, A., Htoon, A., & Gilbert, E. P. (2007). Influence of extrusion and digestion on the nanostructure of high-amylose maize starch. *Biomacromolecules*, 8(5), 1564-1572.

- Maache-Rezzoug, Z., Zarguili, I., Loisel, C., Queveau, D., & Buleon, A. (2008). Structural modifications and thermal transitions of standard maize starch after DIC hydrothermal treatment. *Carbohydrate Polymers*, 74(4), 802-812.
- Mangala, S. L., Malleshi, N. G., & Tharanathan, R. N. (1999). Resistant starch from differently processed rice and ragi (finger millet). *European Food Research and Technology*, 209(1), 32-37.
- Martínez-Bustos, F., Chang, Y. K., Bannwart, A. C., Rodriguez, M. E., Guedes, P. A., & Gaiotti, E. R. (1998). Effects of calcium hydroxide and processing conditions on corn meal extrudates. *Cereal Chemistry*, 75(6), 796-801.
- Martinez-Flores, H. E., Chang, Y. K., Martinez-Bustos, F., & Sgarbieri, V. (2004). Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. *Nutrition research*, 24(1), 85-93.
- Masatcioglu, M. T., Yalcin, E., Hwan, P. J., Ryu, G. H., Celik, S., & Koksel, H. (2014). Hull-less barley flour supplemented corn extrudates produced by conventional extrusion and CO₂ injection process. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 302-309.
- Mendez-Montevalvo, G., Sánchez-Rivera, M. M., Paredes-López, O., & Bello-Perez, L. A. (2006). Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *International journal of biological macromolecules*, 40(1), 59-63.
- Meng, X., Threinen, D., Hansen, M., & Driedger, D. (2010). Effects of extrusion conditions on system parameters and physical properties of a chickpea flour-based snack. *Food Research International*, 43(2), 650-658.
- Meyer, R.H. *Response Surface Methodology*; Allen and Bacon: Boston, MA, USA, 1971; pp. 126-175.
- Moad, G. (2011). Chemical modification of starch by reactive extrusion. *Progress in Polymer Science*, 36(2), 218-237.
- Morand, C., Levrat, M. A., Besson, C., Demigne, C., & Remesy, C. (1994). Effects of a diet rich in resistant starch on hepatic lipid metabolism in the rat. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 5(3), 138-144.
- Mun, S. H., & Shin, M. (2006). Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chemistry*, 96(1), 115-121.
- Nakazawa, Y., & Wang, Y. J. (2003). Acid hydrolysis of native and annealed starches and branch-structure of their Naegeli dextrans. *Carbohydrate Research*, 338(24), 2871-2882.
- Namratha, J., Asna, U., & Prasad, N. N. (2002). Effect of storage on resistant starch content of processed ready-to-eat foods. *Food chemistry*, 79(3), 395-400.
- Nasrin, T. A. A., & Anal, A. K. (2014). Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocolloids*, 35, 403-409.
- O'Brien, S., & Wang, Y. J. (2009). Effects of shear and pH on starch phosphates prepared by reactive extrusion as a sustained release agent. *Carbohydrate polymers*, 77(3), 464-471.
- Obradović, V., Babić, J., Šubarić, D., Jozinović, A., Ačkar, Đ., & Klarić, I. (2015). Influence of dried Hokkaido pumpkin and ascorbic acid addition on chemical properties and colour of corn extrudates. *Food chemistry*, 183, 136-143.
- Onyango, C., Bley, T., Jacob, A., Henle, T., & Rohm, H. (2006). Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydrate polymers*, 66(4), 494-499.
- Ozturk, S., Koksel, H., & Ng, P. K. (2011). Production of resistant starch from acid-modified amylotype starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 156-164.

Parada, J., Aguilera, J. M., & Brennan, C. (2011). Effect of guar gum content on some physical and nutritional properties of extruded products. *Journal of Food Engineering*, 103(3), 324-332.

Perera, A., Meda, V., & Tyler, R. T. (2010). Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Research International*, 43(8), 1959-1974.

Platt - Lucero, L. C., Ramírez - Wong, B., Torres - Chávez, P. I., López - Cervantes, J., Sánchez - Machado, D. I., Carvajal - Millan, E., & Morales - Rosas, I. (2013). Effect of xylanase on extruded nixtamalized corn flour and tortilla: physicochemical and rheological characteristics. *Journal of Food Process Engineering*, 36(2), 179-186.

Politz, M. L., Timpa, J. D., & Wasserman, B. P. (1994). Quantitative measurement of extrusion-induced starch fragmentation products in maize flour using nonaqueous automated gel-permeation chromatography. *Cereal chemistry*, 71(6), 532-536.

Pongjanta, J., Utaipatanacheep, A., Naivikul, O., & Piyachomkwan, K. (2008). Enzymes-resistant starch (RS III) from pullulanase-debranched high amylose rice starch. *Kasetsart J. Nat. Sci*, 42, 198-205.

Rahman, S., Bird, A., Regina, A., Li, Z., Ral, J. P., McMaugh, S., ... & Morell, M. (2007). Resistant starch in cereals: exploiting genetic engineering and genetic variation. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 251-260.

Rao, M.A. *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*; Springer Science & Business Media: Geneva, NY, USA , 2010; pp. 30-35

Reddy, C. K., Haripriya, S., Mohamed, A. N., & Suriya, M. (2014). Preparation and characterization of resistant starch III from elephant foot yam (*Amorphophallus paeonifolius*) starch. *Food chemistry*, 155, 38-44.

Reddy, C. K., Suriya, M., & Haripriya, S. (2013). Physico-chemical and functional properties of Resistant starch prepared from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*. L) starch by enzymatic method. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 220-226.

Robin, F., Théoduloz, C., Gianfrancesco, A., Pineau, N., Schuchmann, H. P., & Palzer, S. (2011). Starch transformation in bran-enriched extruded wheat flour. *Carbohydrate Polymers*, 85(1), 65-74.

Rochfort, S., & Panozzo, J. (2007). Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(20), 7981-7994.

Rodriguez, R., Jimenez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., & Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17(1), 3-15.

Rodríguez-Miranda, J., Delgado-Licon, E., Ramírez-Wong, B., Solís-Soto, A., Vivar-Vera, M. A., Gómez-Aldapa, C. A., & Medrano-Roldán, H. (2012). Effect of moisture, extrusion temperature and screw speed on residence time, specific mechanical energy and psychochemical properties of bean four and soy protein aquaculture feeds. *Journal of Animal Production Advances*, 2(1), 65-73.

Ruiz-Gutiérrez, M. G., Amaya-Guerra, C. A., Quintero-Ramos, A., Pérez-Carrillo, E., Ruiz-Anchondo, T. D. J., Báez-González, J. G., & Meléndez-Pizarro, C. O. (2015). Effect of extrusion cooking on bioactive compounds in encapsulated red cactus pear powder. *Molecules*, 20(5), 8875-8892.

Sánchez - Madrigal, M. Á., Meléndez - Pizarro, C. O., Martínez - Bustos, F., Ruiz - Gutiérrez, M. G., Quintero - Ramos, A., Márquez - Meléndez, R., ... & Campos - Venegas, K. (2014). Structural, functional, thermal and rheological properties of nixtamalised and extruded blue maize (*Zea mays* L.) flour with different calcium sources. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(2), 578-586.

- Sandhu, K. S., & Singh, N. (2007). Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101(4), 1499-1507.
- Sandoval-Aldana, A., Rodriguez-Sandoval, E., & Fernandez-Quintero, A. (2005). Application of analysis by differential scanning calorimetry (DSC) for the characterization of the modifications of the starch. *dyna*, 72(146), 45-53.
- Sarawong, C., Schoenlechner, R., Sekiguchi, K., Berghofer, E., & Ng, P. K. (2014). Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food chemistry*, 143, 33-39.
- Sasaki, T., Yasui, T., & Matsuki, J. (2000). Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. *Cereal chemistry*, 77(1), 58-63.
- Sharma, A., Yadav, B. S., & Ritika. (2008). Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, 24(2), 193-234.
- Shi, M. M., & Gao, Q. Y. (2011). Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. *Carbohydrate polymers*, 84(3), 1151-1157.
- Shi, M., Chen, Y., Yu, S., & Gao, Q. (2013). Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 19-25.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81(2), 219-231.
- Themeier, H., Hollmann, J., Neese, U., & Lindhauer, M. G. (2005). Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in starches of different botanical origin. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 72-79.
- Singh, S., Gamlath, S., & Wakeling, L. (2007). Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(8), 916-929.
- Song, D., Thio, Y. S., & Deng, Y. (2011). Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. *Carbohydrate polymers*, 85(1), 208-214.
- Srikaeo, K., & Sangkhiaw, J. (2014). Effects of amylose and resistant starch on glycaemic index of rice noodles. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1129-1135.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & İbanoğlu, Ş. (2010). The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chemistry*, 121(1), 156-164.
- Themeier, H., Hollmann, J., Neese, U., & Lindhauer, M. G. (2005). Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in starches of different botanical origin. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 72-79.
- Thompson, D. B. (2000). Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Science & Technology*, 11(7), 245-253.
- Tm, T. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. *Cereal Chem*, 70(3), 339-344.
- Utrilla-Coello, R. G., Hernández-Jaimes, C., Carrillo-Navas, H., González, F., Rodríguez, E., Bello-Perez, L. A., ... & Alvarez-Ramirez, J. (2014). Acid hydrolysis of native corn starch: morphology, crystallinity, rheological and thermal properties. *Carbohydrate polymers*, 103, 596-602.
- Vaidya, R. H., & Sheth, M. K. (2011). Processing and storage of Indian cereal and cereal products alters its resistant starch content. *Journal of food science and technology*, 48(5), 622-627.

- Van Hung, P., Vien, N. L., & Phi, N. T. L. (2016). Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food chemistry*, 191, 67-73.
- Van Hung, P., Vien, N. L., & Phi, N. T. L. (2016). Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food chemistry*, 191, 67-73.
- Van Hung, P., Vien, N. L., & Phi, N. T. L. (2016). Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food chemistry*, 191, 67-73.
- Vasanthan, T., & Bhatt, R. S. (1998). Enhancement of resistant starch (RS3) in amylomaize, barley, field pea and lentil starches. *Starch - Stärke*, 50(7), 286-291.
- Vasanthan, T., Gaosong, J., Yeung, J., & Li, J. (2002). Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*, 77(1), 35-40.
- Vollertsen, F., Sprenger, A., Kraus, J., & Arnet, H. (1999). Extrusion, channel, and profile bending: a review. *Journal of Materials Processing Technology*, 87(1), 1-27.
- Waduge, R. N., Hoover, R., Vasanthan, T., Gao, J., & Li, J. (2006). Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. *Food Research International*, 39(1), 59-77.
- Wandee, Y., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Pancha-arnon, S., & Uttapap, D. (2012). Effects of gelatinization and gel storage conditions on the formation of canna resistant starch. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2665-2673.
- Wang, B., Wang, L. J., Li, D., Özkan, N., Li, S. J., & Mao, Z. H. (2009). Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carbohydrate Polymers*, 77(3), 472-481.
- Wang, L., & Wang, Y. J. (2001). Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches. *Starch-Stärke*, 53(11), 570-576.
- Wang, N., Maximiuk, L., & Toews, R. (2012). Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process. *Food Chemistry*, 133(3), 742-753.
- Wang, Y. J., Truong, V. D., & Wang, L. (2003). Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 327-333.
- Wasserman, L. A., Signorelli, M., Schiraldi, A., Yuryev, V., Boggini, G., Bertini, S., & Fessas, D. (2007). Preparation of wheat resistant starch. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 87(1), 153-157.
- Wei, B., Hu, X., Zhang, B., Li, H., Xu, X., Jin, Z., & Tian, Y. (2013). Effect of defatting on acid hydrolysis rate of maize starch with different amylose contents. *International journal of biological macromolecules*, 62, 652-656.
- Wen, L. F., Rodis, P., & Wasserman, B. P. (1990). Starch fragmentation and protein insolubilization during twin-screw extrusion of corn meal. *Cereal Chemistry*, 67(3), 268-275.
- Whistler R and Daniel, J. 1984. Molecular structure of starch. *Starch: chemistry and technology*. 2:153-182.
- Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L., & Korus, J. (2016). Starch and starch derivatives in gluten-free systems—A review. *Journal of Cereal Science*, 67, 46-57.
- Xie, X. S., Liu, Q., & Cui, S. W. (2006). Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Research International*, 39(3), 332-341.

Xu, J., Fan, X., Ning, Y., Wang, P., Jin, Z., Lv, H., ... & Xu, X. (2013). Effect of spring dextrin on retrogradation of wheat and corn starch gels. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 361-367.

Yadav, B. S., Sharma, A., & Yadav, R. B. (2010). Resistant starch content of conventionally boiled and pressure-cooked cereals, legumes and tubers. *Journal of food science and technology*, 47(1), 84-88.

Yonekura, L., Tamura, H., & Suzuki, H. (2003). Chitosan and resistant starch restore zinc bioavailability, suppressed by dietary phytate, through different mechanisms in marginally zinc-deficient rats. *Nutrition research*, 23(7), 933-944.

Zazueta - Morales, J., Martínez - Bustos, F., Jacobo - Valenzuela, N., Ordorica - Falomir, C., & Paredes - Lopez, O. (2002). Effects of calcium hydroxide and screw speed on physicochemical characteristics of extruded blue maize. *Journal of food science*, 67(9), 3350-3358.

Zhang, H., & Jin, Z. (2011). Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1610-1614.

Zhao, X. H., & Lin, Y. (2009). Resistant starch prepared from high-amylose maize starch with citric acid hydrolysis and its simulated fermentation in vitro. *European Food Research and Technology*, 228(6), 1015-1021.

Zhou, Y., Meng, S., Chen, D., Zhu, X., & Yuan, H. (2014). Structure characterization and hypoglycemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch. *Carbohydrate polymers*, 103, 81-86.

153. Zhu, L. J., Shukri, R., de Mesa-Stonestreet, N. J., Alavi, S., Dogan, H., & Shi, Y. C. (2010). Mechanical and microstructural properties of soy protein–high amylose corn starch extrudates in relation to physiochemical changes of starch during extrusion. *Journal of food e*

VIII ANEXO

8.1 Análisis de varianza de parámetros experimentales

Tabla 22. Análisis de varianza para almidón resistente en harinas extruidas con la condición óptima.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	6.0832	0.5501	80.21	>0.0001
Error	25	0.1724	0.0068		
Total	36	6.2555			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 23. Análisis de varianza para almidón resistente en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	595.35	54.1234	7742.51	>0.0001
Error	18	0.126	0.0070		
Total	29	595.48			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 24. Análisis de varianza para ISA en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	4003.38	363.94	288.67	>0.0001
Error	24	30.26	1.261		
Total	35	4033.64			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 25. Análisis de varianza para IAA en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	284.96	25.906	303.28	>0.0001
Error	20	1.708	0.0854		
Total	31	286.67			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 26. Análisis de varianza para viscosidad máxima en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	153112613	13919328	1144.06	>0.0001
Error	12	1459988	121666		
Total	23	1532586126			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 27. Análisis de varianza para Breakdown a AMCS, ECP y ACCS

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	11	276738641	25158058	109.39	>0.0001
Error	12	2759946	229995		
Total	23	279498587			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 28. Análisis de varianza para entalpia en harinas sometidas a AMCS, ECP y ACCS

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	7	323.166	46.1666	2902.95	>0.0001
Error	9	0.143	0.0159		
Total	16	323.310			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 29. Análisis de varianza para la temperatura de gelatinización en harinas sometidas a a AMCS, ECP y ACCS.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	7	69.340	9.9057	11.48	>0.0001
Error	10	8.631	0.8631		
Total	17	77.971			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 30. Análisis de varianza para el contenido de humedad en dietas para bioensayo

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	0.4866	0.2413	20.71	0.002
Error	6	0.0699	0.0116		
Total	8	0.5525			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 31. Análisis de varianza para el contenido de grasa en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	0.2454	0.1227	6.73	0.078
Error	3	0.0546	0.0182		
Total	5	0.3000			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 32. Análisis de varianza para el contenido de cenizas en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	8.2188	4.1440	390.16	>0.0001
Error	6	0.0637	0.0106		
Total	8	8.3519			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 33. Análisis de varianza para el contenido de fibra cruda en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	0.1179	0.0589	0.038	0.701
Error	5	0.7708	0.1541		
Total	7	0.8886			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 34. Análisis de varianza para el contenido de proteína en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	0.8514	0.4257	3.79	0.119
Error	4	0.4490	0.1123		
Total	6	1.3004			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 35. Análisis de varianza para el contenido de carbohidratos en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	23.239	11.6196	69.44	>0.0001
Error	6	1.004	0.1673		
Total	8	24.243			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 36. Análisis de varianza para el contenido de fibra soluble en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	0.000193	0.000096	0.02	0.981
Error	3	0.014624	0.004875		
Total	5	0.014816			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 37. Análisis de varianza para el contenido de fibra insoluble en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	20.7130	12.8565	165.67	0.001
Error	3	0.2328	0.0776		
Total	5	25.9459			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 38. Análisis de varianza para el contenido de fibra dietaría en dietas suministradas durante el bioensayo.

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	18.0126	9.0063	142.03	0.001
Error	3	0.1902	0.06341		
Total	5	18.2028			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 39. Análisis de varianza de glucosa en sangre

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	54.4	27.19	0.10	0.904
Error	54	14480.6	268.16		
Total	56	14535.0			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 40. Análisis de varianza de colesterol en sangre

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	65.03	32.52	0.69	0.505
Error	55	2582.34	46.95		
Total	57	2647.38			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 41. Análisis de varianza para triglicéridos en sangre

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	662.3	331.1	0.73	0.485
Error	53	23929.7	451.5		
Total	55	24591.9			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

Tabla 42. Análisis de varianza para ganancia de peso en ratas wistar

Fuente	GL	SS	CM	F	P
Tratamiento	2	24556	12278	6.30	0.003
Error	55	107215	1949		
Total	57	131771			

El análisis de varianza se calculó para una $P < 0.05$

8.2 Diagramas de proceso.

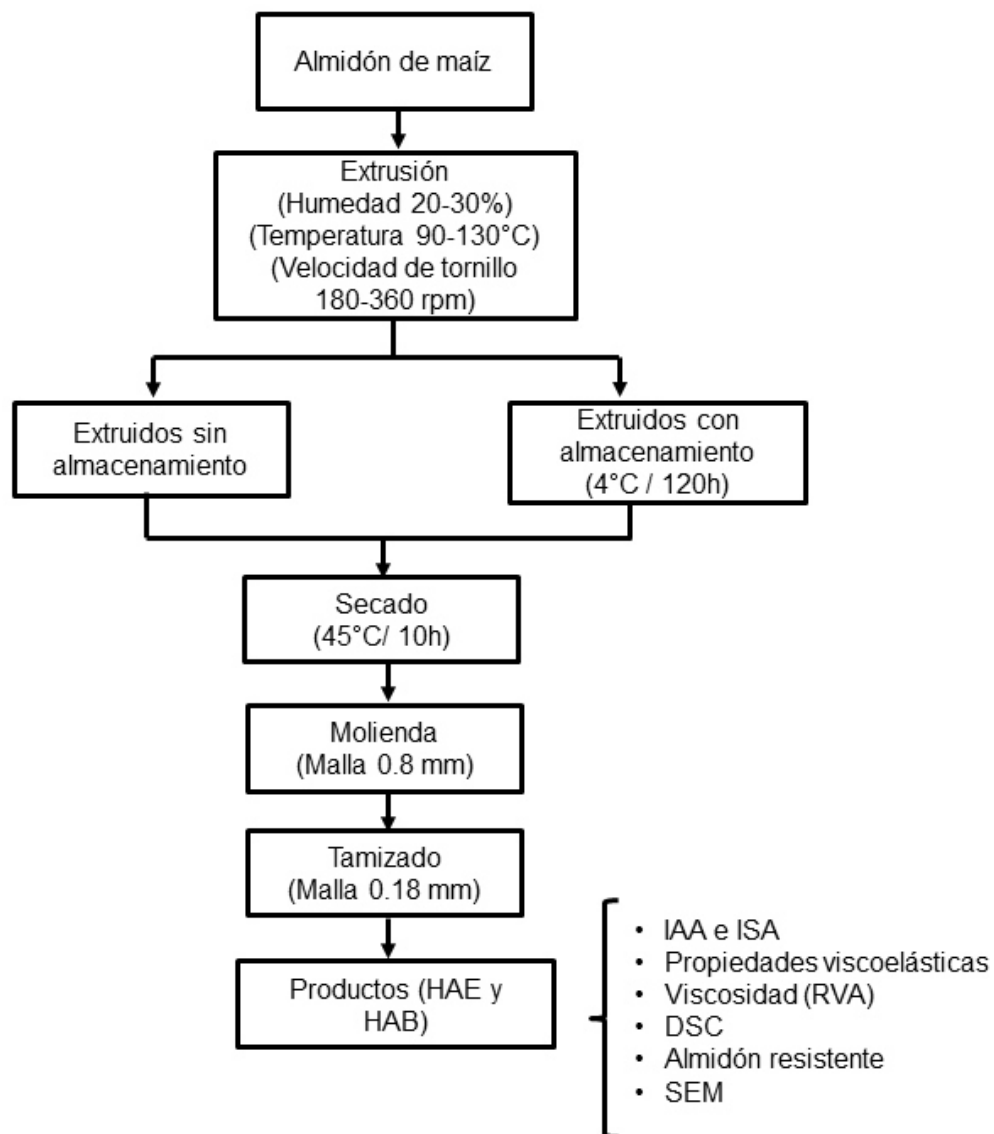


Figura 31. Diagrama de proceso general para obtención de harinas extruidas de almidón



Figura 32. Extrusor doble tornillo escala piloto marca (BTSK-20/40, Bühler AG, Uzwil, Switzerland) y productos extruidos

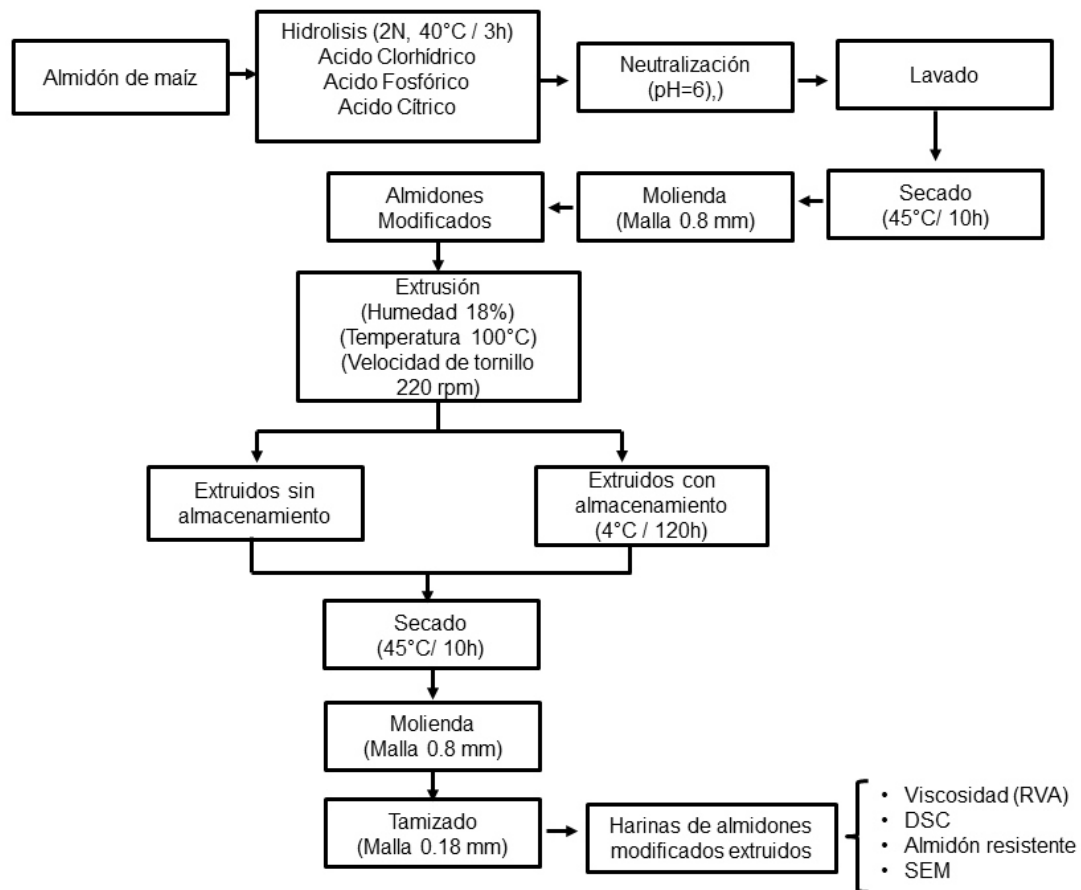


Figura 33. Diagrama de proceso general para obtención de harinas de almidón hidrolizados sometidas a proceso de extrusión-cocción.



CÍTRICO

FOSFÓRICO

HCl

NATIVO

Figura 34. Extrusor doble tornillo nivel laboratorio marca (LT70 Shandong Light M&E) y productos extruidos de almidones hidrolizados.

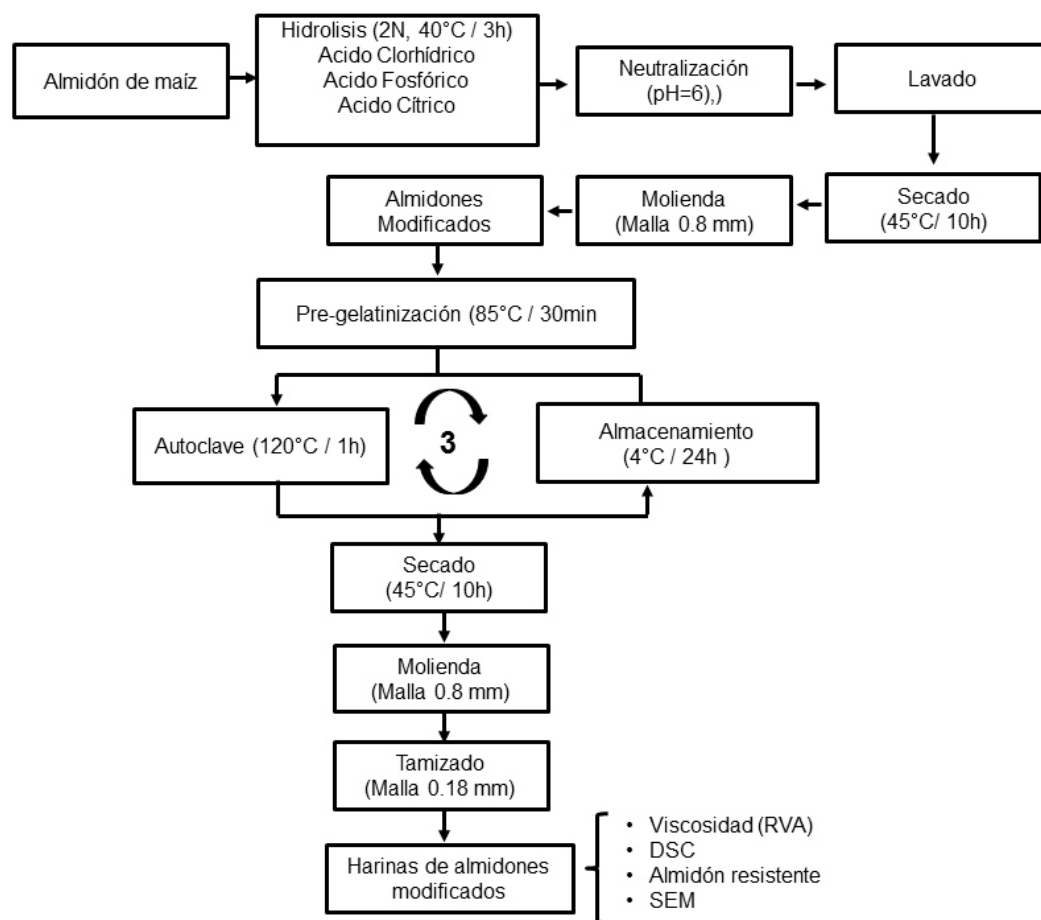


Figura 35. Diagrama de proceso general para obtención de harinas de almidón hidrolizados por proceso hidrotérmico.

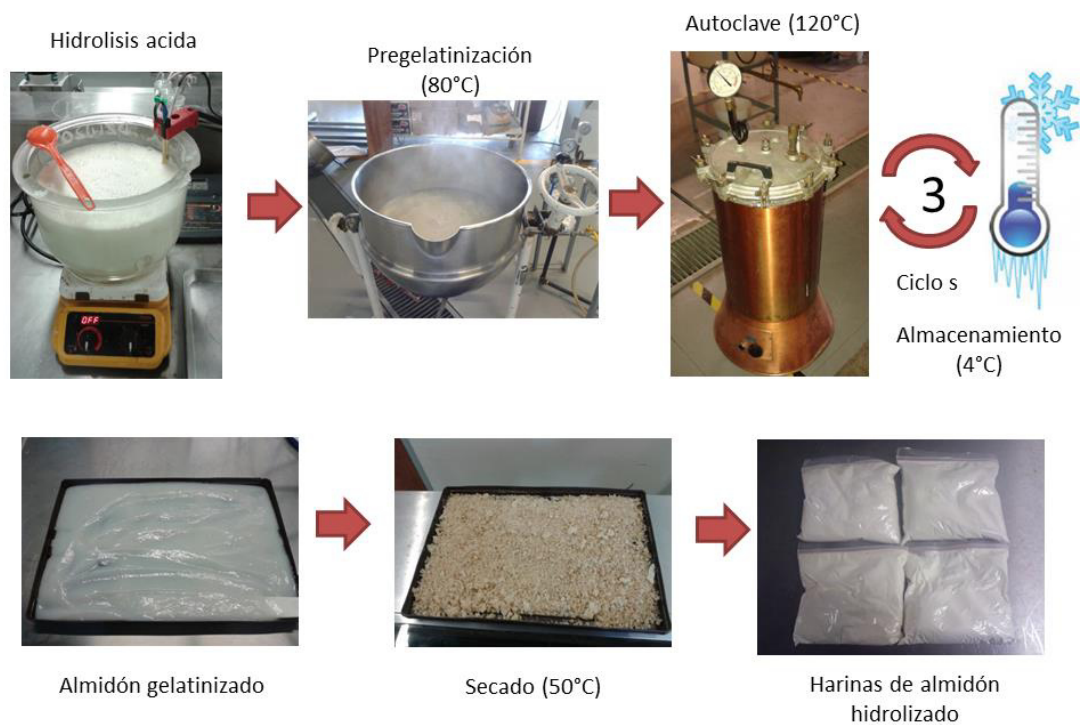


Figura 36. Proceso de obtención de almidón resistente por ciclos de autoclave.

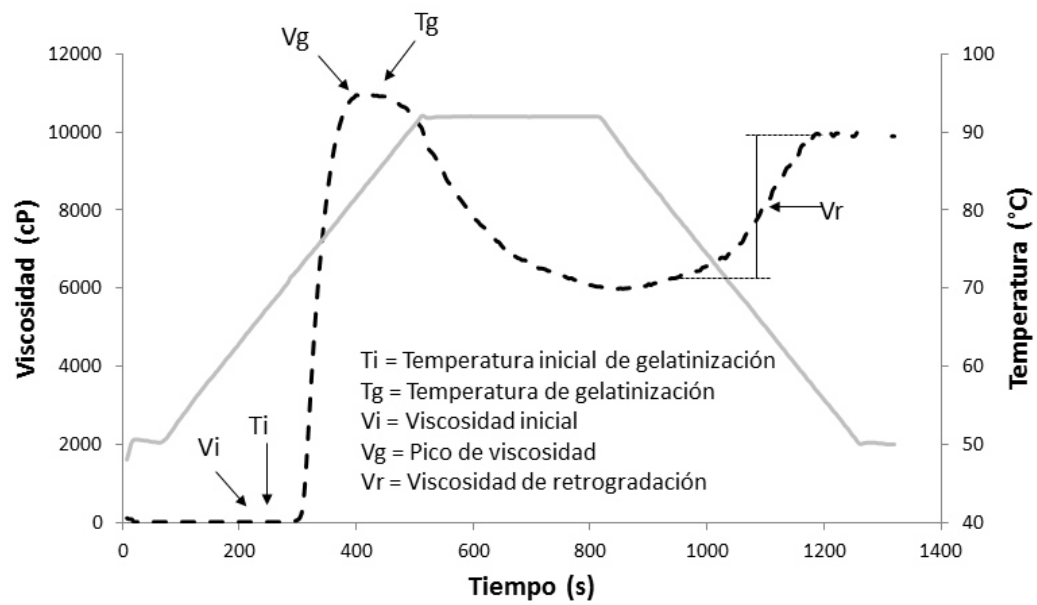


Figura 37. Perfil viscoamilográfico típico de almidón nativo de maíz.

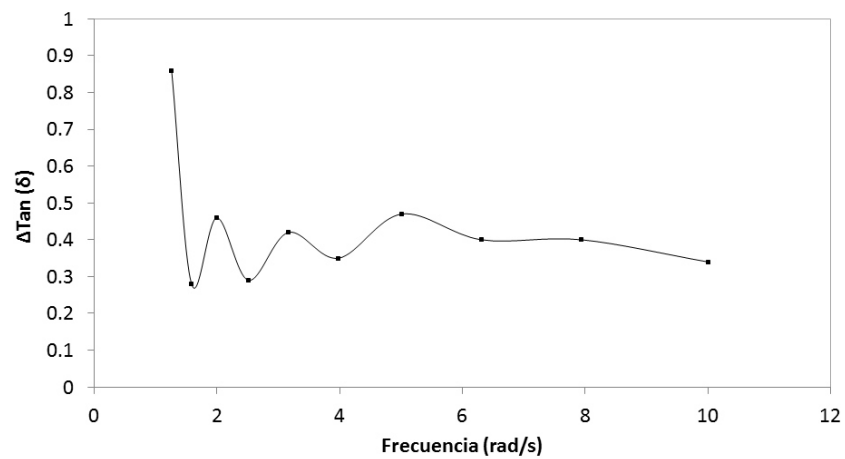


Figura 38. Gráfica de la diferencia de la tangente del ángulo de fase ($\Delta \text{Tan } \delta$) contra la frecuencia de 1 a 10 rad/s.

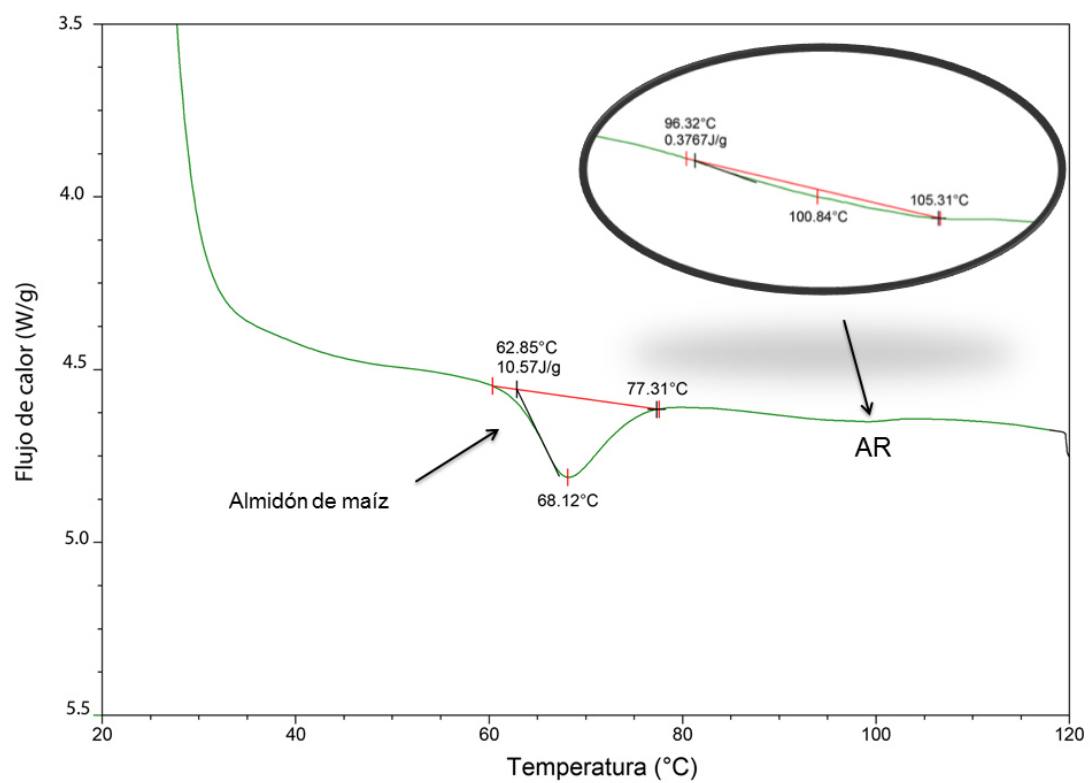


Figura 39. Endotermas presentes en el almidón de maíz.



Figura 40. Bioensayo y toma de muestras utilizando ratas Wistar

ANEXO

Artículo

Physicochemical Changes and Resistant-Starch Content of Extruded Cornstarch with and without Storage at Refrigerator Temperatures

Article

Physicochemical Changes and Resistant-Starch Content of Extruded Cornstarch with and without Storage at Refrigerator Temperatures

David Neder-Suárez ¹, Carlos A. Amaya-Guerra ¹, Armando Quintero-Ramos ^{2,*}, Esther Pérez-Carrillo ³, María G. de J. Alanís-Guzmán ¹, Juan G. Báez-González ¹, Carlos L. García-Díaz ¹, María A. Núñez-González ¹, Daniel Lardizábal-Gutiérrez ⁴ and Jorge A. Jiménez-Castro ²

¹ Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza 66450, Mexico; neder_david@yahoo.com.mx (D.N.-S.); numisamaya@hotmail.com (C.A.A.-G.); maria.alanisgm@uanl.edu.mx (M.G.d.J.A.-G.); juan.baezgn@uanl.edu.mx (J.G.B.-G.); clgarciadiaz@gmail.com (C.L.G.-D.); maria.nunezgn@uanl.edu.mx (M.A.N.-G.)

² Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Circuito Universitario s/n Campus Universitario 2, Chihuahua 31125, Mexico; jajimenez@uach.mx

³ Centro de Biotecnología-FEMSA, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Tecnológico de Monterrey, Av. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey 64849, Mexico; perez.carrillo@itesm.mx

⁴ Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S. C. Avenida Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua, Chihuahua 31109, Mexico; daniel.lardizabal@cimav.edu.mx

* Correspondence: aquinter@uach.mx or aquira60@gmail.com; Tel./Fax: +52-614-236-6000

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 18 June 2016; Accepted: 10 August 2016; Published: 15 August 2016

Abstract: Effects of extrusion cooking and low-temperature storage on the physicochemical changes and resistant starch (RS) content in cornstarch were evaluated. The cornstarch was conditioned at 20%–40% moisture contents and extruded in the range 90–130 °C and at screw speeds in the range 200–360 rpm. The extrudates were stored at 4 °C for 120 h and then at room temperature. The water absorption, solubility index, RS content, viscoelastic, thermal, and microstructural properties of the extrudates were evaluated before and after storage. The extrusion temperature and moisture content significantly affected the physicochemical properties of the extrudates before and after storage. The RS content increased with increasing moisture content and extrusion temperature, and the viscoelastic and thermal properties showed related behaviors. Microscopic analysis showed that extrusion cooking damaged the native starch structure, producing gelatinization and retrogradation and forming RS. The starch containing 35% moisture and extruded at 120 °C and 320 rpm produced the most RS (1.13 g/100 g) after to storage at low temperature. Although the RS formation was low, the results suggest that extrusion cooking could be advantageous for RS production and application in the food industry since it is a pollution less, continuous process requiring only a short residence time.

Keywords: extrusion cooking; resistant starch; thermal properties; viscoelastic properties; cornstarch

1. Introduction

Starch is a complex carbohydrate composed of glucose units consisting of amylose and amylopectin [1,2] and is widely used in food production. However, current market trends demand functional ingredients with health benefits, and starch transformed into resistant starch (RS) shows advantages in a diverse range of applications. RS has modified starch or starch fractions that are indigestible in the small intestine, so it is similar to dietary fiber and shows similar health benefits [3,4].

RS is classified as physically inaccessible starch (type 1), raw starch granules and high-amylose starch (type 2), retrograded gelatinized starch or dispersion granules (type 3), and chemically modified starch (type 4) [4–7].

RS yields vary according to the hydrolysis process used; e.g., HCl (12%–25%) [8,9], lactic acid (2%–8%) [10], citrate (41%), and phosphate (25%–70%) [11,12]. Alternative hydrothermal processes performed at 110 °C over three days yielded 12% RS [13] and up to 25% in an acidic environment [14–17]. However, such processes are lengthy, show high energy cost, and produce pollutants [18] and in some cases even require batch type operations that produce low yields [13,18]; therefore, such processes are impractical for industrial scaling.

Extrusion cooking has conventionally been used to obtain a variety of extruded products because it is a continuous process, it is versatile, and it shows short processing times, high productivity, and energy efficiency [4,5,18–21]. The extrusion cooking process (ECP) has been used to produce RS [5,13,20,22–24] at low yields under certain extrusion conditions [20]. Under some conditions, however, the ECP did not produce any RS [13] due to the effect of extrusion variables such as extrusion temperature, moisture content, and screw speed during processing [13,20,22,25]. Certain combinations of these parameters result in starch retrogradation or excessive dextrinization [5,7,9,26–31], which limit the formation of RS. Cornstarch has previously been extruded at high screw speeds without RS detection [13]. High-moisture-content banana and oat starches have generated low-yield RS due to a low gelatinization and component release, respectively [20,24]. Wheat flour subjected to high-temperature extrusion showed low levels of RS due to high dextrinization during the ECP [5], rendering the starch unusable for RS generation [23,32]. Other studies [22,23] have reported the production of more than 10% RS from mango and banana starches at different moisture contents and extrusion temperatures, suggesting that more studies are needed to evaluate the influence of extrusion variables in other ranges of the process on RS formation. Optimizing the moisture content, extrusion temperature, and screw speed is critical for the formation of RS. Therefore, the aims of this study were to evaluate and optimize the ECP conditions and to determine their effects on the physical and chemical changes in RS formed from cornstarch.

2. Results and Discussion

2.1. Chemical Composition of Cornstarch

The proximate composition of the native cornstarch is shown in Table 1. The moisture, ash, protein, and fat contents were 10.9%, 0.03%, 0.1%, and 0.05%, respectively. Similar results have previously been reported [23,33]. The RS content was 0.670 g/100 g, similar to the finding reported by Shi and Gao [34].

Table 1. Physicochemical characteristics of native cornstarch.

Parameter	Content
Moisture content (%)	10.9 ± 0.29
Proteins (%)	0.10 ± 0.06
Fat (%)	0.05 ± 0.03
Ash (%)	0.03 ± 0.01
Resistant starch (g/100 g)	0.67 ± 0.022
Apparent viscosity (Pa·s)	0.89 ± 0.015
Storage modulus (Pa)	0.50 ± 0.02
Loss modulus (Pa)	0.47 ± 0.08
The ratio of loss modulus/storage modulus	0.87 ± 0.15
Enthalpy (J/g)	9.91 ± 0.80
Gelatinization temperature (°C)	72.40 ± 0.07
Water absorption index	1.80 ± 0.01
Water solubility index	0.13 ± 0.05

Values are the average of triplicate measurements ± standard deviation.

2.2. Model Fitting

The influences of the extrusion temperature, feed moisture content, and screw speed on the physical and chemical properties of cornstarch are shown in Tables 2 and 3, respectively. The analysis of variance for all the responses indicated an adequate adjustment without significant lack of fit, except for the RS content and the WSI of the extruded starch before storage (EBS) (Table 4). The regression coefficients were obtained by fitting the experimental data to the second-order model (Table 5), and the models gave satisfactory R^2 values.

2.3. Water Absorption Index (WAI)

The WAI is an indicator of the capacity of flour to absorb water, which depends on the availability of hydrophilic groups that bind to water molecules and on the capacity of macromolecules to form a gel [35]. The values ranged from 2.7 to 6.8, higher than that of the native starch (1.8). The screw speed and moisture content significantly affected the WAI of the EBS, while the extrusion temperature and moisture content significantly affected the WAI of the extruded starch after storage (EAS) (Table 4). Figure 1a,b shows the effects of the extrusion temperature and the moisture content on the WAI of the EBS and EAS extrudates, respectively. The WAI of the EBS extruded at 106 °C and a screw speed of 249.5 rpm increased to a maximum of 6.33 at a moisture content of 28.5% with increasing extrusion temperature and moisture content (Figure 1a). The EAS showed a similar trend (Figure 1b) with marked effects of moisture content and extrusion temperature (Table 4). The adjusted model shows that the maximum WAI for the EAS containing 27.3% moisture and extruded at 112 °C and 267.3 rpm was similar to the WAI for the EBS. The changes in the WAI of the EBS and EAS are attributed mainly to the extrusion temperature and the high moisture content, which both favor mixing in the extruder thereby increasing starch granule swelling and starch gelatinization, which increase the capacity of the starch to absorb water and increase the starch viscosity [36]. Figure 1a shows at low moisture content the WAI was influenced by temperature, at low temperatures, starch gelatinization was low minimizing the amount of damage to the starch structure [24,37]. While at high extrusion temperatures cause crystal melting of amylopectin molecules, generating more starch damage (dextrinization and destruction of starch structure), decreasing the WAI [23,25].

2.4. Water Solubility Index (WSI)

The WSI is a parameter for measuring the degradation of starch. Lower WSI values indicate that less starch is degraded and that the extruded products contain fewer soluble molecules [38]. Figure 1c shows that the WSI of the EBS containing 40.4% moisture and extruded at 110.3 °C and 348 rpm decreased with increasing moisture content to a minimum of 2.13. The WSI of the EAS shows a similar trend (Figure 1b). The adjusted model shows a saddle point for the EAS containing 70.97% moisture and extruded at 204.67 °C and 283.47 rpm, which explains 85% of the variability in the data. The WSI decreased at high moisture contents due to partial starch gelatinization during extrusion, which prevents the release of components [20,22,39]. High moisture contents in feed into the extruder possibly act like lubricants during transportation of solid through the barrel, minimizing the phenomenon of starch gelatinization and thus the associated changes in the rheological and functional properties (WSI). Similar results have been reported by Bhattacharya et al. [40]. Treatments under low-moisture conditions may restrict the flow of material into the extruder barrel thereby incrementing the amount of friction and the viscosity of the starch [36], which increases the number of degraded starch granules formed at high temperatures thereby forming significantly more water-soluble products [41]. This phenomenon is caused by greater fragmentation of the starch, a process known as dextrinization, during extrusion thereby increasing the percentage of gelatinized starch [24,25,35,37].

Table 2. Physicochemical and thermal properties of extruded cornstarch at different process conditions.

T	A	B	C	Physicochemical Properties						Thermal Properties	
				EBS			EAS			EAS	
				WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	ΔH	Tg
1	100	25	240	5.54 \pm 0.69	13.78 \pm 1.68	0.604 \pm 0.017	5.75 \pm 0.31	10.96 \pm 1.46	0.632 \pm 0.064	0.59 \pm 0.008	101.65 \pm 0.89
2	120	25	240	4.90 \pm 0.26	16.47 \pm 2.10	0.540 \pm 0.014	5.86 \pm 0.08	14.23 \pm 0.58	0.930 \pm 0.040	0.06 \pm 0.009	92.89 \pm 1.31
3	100	35	240	4.41 \pm 0.04	5.48 \pm 0.23	0.638 \pm 0.051	3.08 \pm 0.33	4.78 \pm 0.19	0.823 \pm 0.013	0.43 \pm 0.100	100.71 \pm 1.55
4	120	35	240	4.90 \pm 0.13	4.26 \pm 0.67	0.559 \pm 0.020	2.99 \pm 0.12	4.11 \pm 0.14	1.134 \pm 0.028	0.46 \pm 0.050	101.27 \pm 0.23
5	100	25	320	4.74 \pm 0.60	28.04 \pm 4.52	0.681 \pm 0.015	5.10 \pm 0.16	13.71 \pm 1.12	0.694 \pm 0.010	0.69 \pm 0.040	101.25 \pm 0.28
6	120	25	320	4.42 \pm 0.04	28.17 \pm 1.88	0.572 \pm 0.041	4.69 \pm 0.16	20.11 \pm 3.13	0.936 \pm 0.024	0.01 \pm 0.009	95.12 \pm 0.74
7	100	35	320	4.77 \pm 0.07	4.77 \pm 0.20	0.625 \pm 0.013	2.90 \pm 0.20	2.90 \pm 0.04	0.975 \pm 0.017	0.79 \pm 0.030	101.01 \pm 0.95
8	120	35	320	5.40 \pm 0.10	7.40 \pm 0.65	0.576 \pm 0.045	2.79 \pm 0.33	5.14 \pm 0.39	0.845 \pm 0.036	0.08 \pm 0.040	94.61 \pm 0.36
9	90	30	280	6.02 \pm 0.09	9.14 \pm 0.40	0.488 \pm 0.032	4.07 \pm 0.01	6.20 \pm 1.10	0.465 \pm 0.024	0.92 \pm 0.200	100.81 \pm 0.79
10	130	30	280	4.56 \pm 0.01	10.51 \pm 0.21	0.502 \pm 0.056	5.50 \pm 0.02	10.47 \pm 0.64	0.651 \pm 0.019	0.38 \pm 0.010	100.84 \pm 0.91
11	110	20	280	4.37 \pm 0.20	28.65 \pm 1.58	0.791 \pm 0.017	3.71 \pm 0.20	17.54 \pm 1.75	0.830 \pm 0.015	0.01 \pm 0.008	101.66 \pm 0.33
12	110	40	280	4.12 \pm 0.03	3.39 \pm 0.70	0.679 \pm 0.026	2.78 \pm 0.21	4.67 \pm 0.14	1.049 \pm 0.020	0.53 \pm 0.001	100.67 \pm 1.91
13	110	30	200	6.45 \pm 0.06	8.14 \pm 0.78	0.503 \pm 0.021	4.72 \pm 0.06	3.96 \pm 0.10	0.563 \pm 0.025	0.39 \pm 0.060	100.36 \pm 1.23
14	110	30	360	5.77 \pm 0.50	10.47 \pm 0.21	0.492 \pm 0.011	4.95 \pm 0.06	6.19 \pm 0.19	0.564 \pm 0.033	0.38 \pm 0.030	98.25 \pm 1.05
15	110	30	280	6.76 \pm 0.63	8.18 \pm 0.14	0.323 \pm 0.014	5.06 \pm 0.23	4.46 \pm 0.32	0.422 \pm 0.022	0.21 \pm 0.010	101.63 \pm 0.14
16	110	30	280	6.21 \pm 0.06	5.75 \pm 1.76	0.405 \pm 0.029	5.89 \pm 0.27	4.85 \pm 0.41	0.407 \pm 0.035	0.26 \pm 0.003	100.29 \pm 0.60
17	110	30	280	6.52 \pm 0.58	6.06 \pm 0.90	0.388 \pm 0.020	6.17 \pm 0.28	6.14 \pm 0.17	0.452 \pm 0.025	0.24 \pm 0.020	98.22 \pm 0.28
18	110	30	280	6.29 \pm 0.15	6.02 \pm 1.12	0.419 \pm 0.033	6.53 \pm 0.16	8.73 \pm 0.42	0.416 \pm 0.010	0.39 \pm 0.060	99.15 \pm 0.49
19	110	30	280	6.12 \pm 0.20	7.14 \pm 0.13	0.394 \pm 0.021	5.58 \pm 0.31	5.24 \pm 0.70	0.325 \pm 0.025	0.35 \pm 0.050	99.82 \pm 0.53
20	110	30	280	6.93 \pm 0.39	7.42 \pm 0.26	0.323 \pm 0.012	6.81 \pm 0.05	8.11 \pm 1.16	0.352 \pm 0.019	0.32 \pm 0.002	98.87 \pm 0.27

Values are the average of triplicate measurements \pm standard deviation. T = Treatment; A = Extrusion temperature ($^{\circ}\text{C}$); B = Moisture content (%); C = Screw speed (rpm); EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 $^{\circ}\text{C}$ for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch (g/100 g); ΔH = Enthalpy of gelatinization (J/g); Tg = Gelatinization temperature ($^{\circ}\text{C}$).

Table 3. Rheological properties of extruded cornstarch at different process conditions.

T	A	B	C	EBS				EAS			
				G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η
1	100	25	240	107.67 \pm 1.07	24.93 \pm 0.23	0.23 \pm 0.001	16.24 \pm 0.42	0.81 \pm 0.19	0.66 \pm 0.09	0.73 \pm 0.064	0.11 \pm 0.01
2	120	25	240	59.09 \pm 1.48	18.97 \pm 1.42	0.32 \pm 0.030	27.05 \pm 1.23	49.16 \pm 9.27	17.85 \pm 3.17	0.49 \pm 0.019	11.51 \pm 0.22
3	100	35	240	0.53 \pm 0.34	0.37 \pm 0.08	0.72 \pm 0.179	0.08 \pm 0.03	0.64 \pm 0.23	0.53 \pm 0.18	0.69 \pm 0.152	0.073 \pm 0.01
4	120	35	240	1.57 \pm 0.58	1.69 \pm 0.31	0.90 \pm 0.610	0.80 \pm 0.03	0.85 \pm 0.26	0.43 \pm 0.21	0.50 \pm 0.104	0.17 \pm 0.15
5	100	25	320	55.00 \pm 21.0	17.34 \pm 4.46	0.32 \pm 0.042	6.36 \pm 0.31	1.37 \pm 0.21	1.29 \pm 0.38	0.93 \pm 0.148	0.20 \pm 0.40
6	120	25	320	27.76 \pm 3.01	13.76 \pm 2.46	0.46 \pm 0.020	10.64 \pm 0.11	30.06 \pm 3.93	14.97 \pm 0.43	0.77 \pm 0.087	6.26 \pm 0.38
7	100	35	320	1.00 \pm 0.42	1.21 \pm 0.52	0.94 \pm 0.138	1.03 \pm 0.14	0.57 \pm 0.08	0.35 \pm 0.21	0.65 \pm 0.157	0.09 \pm 0.01
8	120	35	320	26.07 \pm 6.50	11.20 \pm 1.85	0.43 \pm 0.066	2.46 \pm 0.09	0.43 \pm 0.11	0.22 \pm 0.58	0.32 \pm 0.013	0.22 \pm 0.09
9	90	30	280	19.35 \pm 2.70	8.89 \pm 1.92	0.50 \pm 0.006	1.75 \pm 0.15	1.06 \pm 0.02	1.57 \pm 0.06	1.48 \pm 0.079	0.30 \pm 0.02
10	130	30	280	100.41 \pm 3.80	26.96 \pm 1.17	0.26 \pm 0.010	19.79 \pm 2.36	42.81 \pm 1.66	13.95 \pm 0.33	0.26 \pm 0.001	9.46 \pm 0.02
11	110	20	280	21.80 \pm 1.76	11.01 \pm 0.93	0.50 \pm 0.014	1.71 \pm 0.18	8.23 \pm 0.84	6.36 \pm 0.19	0.77 \pm 0.066	1.77 \pm 0.06
12	110	40	280	1.16 \pm 0.36	0.89 \pm 0.30	0.82 \pm 0.013	0.44 \pm 0.02	0.46 \pm 0.15	0.52 \pm 0.05	0.36 \pm 0.005	0.31 \pm 0.06
13	110	30	200	99.46 \pm 5.60	29.10 \pm 2.05	0.29 \pm 0.009	9.57 \pm 0.73	0.43 \pm 0.06	0.64 \pm 0.09	1.49 \pm 0.082	0.31 \pm 0.02
14	110	30	360	109.58 \pm 8.62	26.96 \pm 2.53	0.25 \pm 0.013	15.75 \pm 0.21	30.75 \pm 2.15	13.09 \pm 1.12	1.17 \pm 0.251	1.96 \pm 0.16
15	110	30	280	291.10 \pm 7.63	56.41 \pm 1.70	0.21 \pm 0.004	32.84 \pm 1.85	45.09 \pm 3.28	55.85 \pm 3.10	0.20 \pm 0.001	22.11 \pm 0.40
16	110	30	280	211.43 \pm 24.1	40.72 \pm 2.67	0.21 \pm 0.005	29.52 \pm 2.77	44.40 \pm 4.15	37.40 \pm 1.73	0.20 \pm 0.010	20.43 \pm 0.42
17	110	30	280	234.00 \pm 23.5	48.83 \pm 0.74	0.19 \pm 0.009	25.11 \pm 0.12	60.56 \pm 5.32	35.63 \pm 2.31	0.17 \pm 0.003	23.43 \pm 0.05
18	110	30	280	289.00 \pm 2.82	39.34 \pm 2.02	0.18 \pm 0.011	33.87 \pm 0.67	60.46 \pm 3.23	52.50 \pm 0.21	0.17 \pm 0.003	21.06 \pm 0.70
19	110	30	280	316.40 \pm 22.5	53.31 \pm 0.40	0.19 \pm 0.009	37.47 \pm 2.04	57.23 \pm 2.70	31.77 \pm 0.25	0.18 \pm 0.007	23.32 \pm 0.33
20	110	30	280	263.28 \pm 27.9	51.30 \pm 5.18	0.22 \pm 0.003	28.35 \pm 1.18	60.92 \pm 2.26	36.11 \pm 0.84	0.18 \pm 0.006	22.10 \pm 0.67

Values are the average of triplicate measurements \pm standard deviation. T = Treatment; A = Extrusion temperature ($^{\circ}$ C); B = Moisture content (%); C = Screw speed (rpm); EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 $^{\circ}$ C for 120 h; G' = Storage modulus (Pa); G'' = Loss modulus (Pa); tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity (Pa·s).

Table 4. Analysis of variance of physicochemical properties of cornstarch extruded at different condition process.

Source	DF	Mean Squares															
		Physicochemical Properties						Rheological Properties						Thermal Properties			
		EBS			EAS			EBS			EAS			EAS			
		WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η	ΔH	Tg
Model	9	1.41 *	127.30 *	0.030 *	2.74 *	44.84 *	0.097 *	22,390.78 *	603.56 *	0.10 *	308.26 *	1151.80 *	620.72 *	0.35 *	188.81 *	0.12 *	6.43
A	1	0.48	3.04	0.004	0.35	24.46	0.075	789.77	82.14	0.021	177.78	1612.21	191.83	0.70 *	81.07	0.55 *	26.72
B	1	0.024	827.28 *	0.003	8.27	287.51 *	0.068	4278.16	407.39	0.33 *	213.5	557.36	126.07	0.16 *	26.15	0.13 *	1.38
C	1	0.2	68.27 *	5×10^{-4}	0.19	9.36	0.004	94.09	2.85	0.0007	8.86	108.24	30.96	0.009	0.2	1×10^{-5}	4.78
AB	1	0.54	0.25	2×10^{-4}	0.001	8.2	0.017	1298.74	54.3	0.38	20.94	740.65	120.85	0.001	37.14	0.038	10.27
AC	1	0.028	0.21	4×10^{-5}	0.036	4.57	0.03	257.15	15.25	0.51	4.23	50.03	1.58	0.0003	3.54	0.1 *	2.34
BC	1	0.57	69.27 *	0.001	0.26	11.21	0.004	1484.3	66.89	0.029	104.45	40.73	0.43	0.60	3.41	5×10^{-4}	8.39
A ²	1	3.15	27.45	0.034 *	3.21 *	11.73	0.1	87,001.11 *	2015.96 *	0.093	797.83 *	2254.50 *	2215.74 *	0.67 *	567.04 *	0.19 *	0.48
B ²	1	9.52 *	169.13 *	0.24 *	13.86 *	47.63 *	0.64	126,500 *	3526.73 *	0.042 *	1361.98 *	4834.64 *	2754.69 *	0.19 *	819.45 *	0.001	1.26
C ²	1	0.56 *	21.01	0.036 *	2.99	0.43	0.11 *	57,122.64 *	1005.44 *	0.025	679.09 *	3073.96 *	2323 *	1.93 *	812.36 *	0.012	1.47
Residual	10	0.3	9.86	0.004	0.84	4.77	0.032	38,113.3	123.83	0.26	52.94	182.98	105.05	0.025	13.56	0.014	6.28
Lack of fit	5	0.49	18.78 *	0.007	1.28	6.38	0.062 *	30,418.4	200.15	0.052 *	86.47	302.91	109.78	0.050 *	25.69	0.022 *	11.1 *
Pure error	5	0.1	0.93	0.002	0.41	3.15	0.003	7694.92	47.6	0.0019	19.41	63.05	100.33	0.0002	1.42	0.005	1.45
R ²		0.81	0.92	0.85	0.75	0.84	0.73	0.84	0.81	0.78	0.84	0.85	0.84	0.92	0.92	0.91	0.47

* Significance ($p < 0.05$). A = Extrusion temperature; B = Moisture content; C = Screw speed; EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch; G' = Storage modulus; G'' = Loss modulus, tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity; ΔH = Enthalpy of gelatinization; Tg = Gelatinization temperature.

Table 5. Regression coefficients from second-order model of relationships between response and independent variables for extruded cornstarch.

Coefficient	Physicochemical Properties						Rheological Properties								Thermal Properties	
	EBS			EAS			EBS				EAS				EAS	
	WAI	WSI	RS	WAI	WSI	RS	G'	G''	tan δ	η	G'	G''	tan δ	η	ΔH	Tg
b ₀	6.35 *	7.32 *	0.39 *	6.35 *	6.58 *	0.44 *	253.71 *	45.80 *	0.23 *	30.14 *	52.35 *	39.66 *	0.17 *	21.18 *	0.29 *	99.35
b ₁	−0.17	0.44	−0.01	−0.17	1.24	0.06	7.03	2.27	−0.036	3.33	10.04	3.46	−0.21 *	2.25	−0.19 *	−1.29
b ₂	−0.04	−7.19 *	−0.01	−0.03 *	−4.74 *	5×10^{-4}	−16.35	−5.05	0.14 *	−3.65 *	−5.9	−2.81	−0.10 *	−1.28	0.09 *	0.29
b ₃	−0.11	2.07 *	0.01	−0.11	0.76	−0.04	−2.43	−0.36	−0.006	−0.74	2.6	1.39	−0.024	−0.11	0	−0.55
b ₁₂	0.26	−0.18	5×10^{-4}	0.26	−1.01	−0.06	12.74	2.61	−0.069	−1.62	−9.62	−3.89	−0.015	−2.15	0.07	1.13
b ₁₃	0.06	0.16	$−5 \times 10^{-4}$	0.06	0.76	−0.02	5.67	1.38	−0.080	−0.73	−2.5	−0.44	−0.006	−0.66	−0.11 *	−0.54
b ₂₃	0.27	−2.94 *	$−2 \times 10^{-4}$	0.27	−1.18	−0.02	13.62	2.89	−0.060	3.61	2.26	0.23	−0.087	0.65	−0.01	−1.02
b ₁₁	−0.35	1.04	0.04 *	−0.35	0.68	0.06	−58.82 *	−8.96 *	0.061	−5.63 *	−9.47 *	−9.39 *	0.16 *	−4.75 *	0.09 *	0.14
b ₂₂	−0.62 *	2.59 *	0.09 *	−0.62 *	1.38	0.16	−70.92 *	−11.84 *	0.13 *	−8.06 *	−13.87 *	−10.47 *	0.086 *	−5.71 *	−0.01	0.22
b ₃₃	−0.15 *	0.91	0.03 *	−0.15	−0.13	0.06	−47.66 *	−6.32 *	0.032	−5.20 *	−11.06 *	−9.61 *	0.28 *	−5.68 *	0.02	−0.24

* Significance ($p < 0.05$). A = Extrusion temperature; B = Moisture content; C = Screw speed; EBS = Extruded flours before the storage; EAS = Extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h; WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; RS = Resistant starch; G' = Storage modulus; G'' = Loss modulus, tan δ = The ratio of loss modulus/storage modulus; η = Apparent viscosity; ΔH = Enthalpy of gelatinization; Tg = Gelatinization temperature.

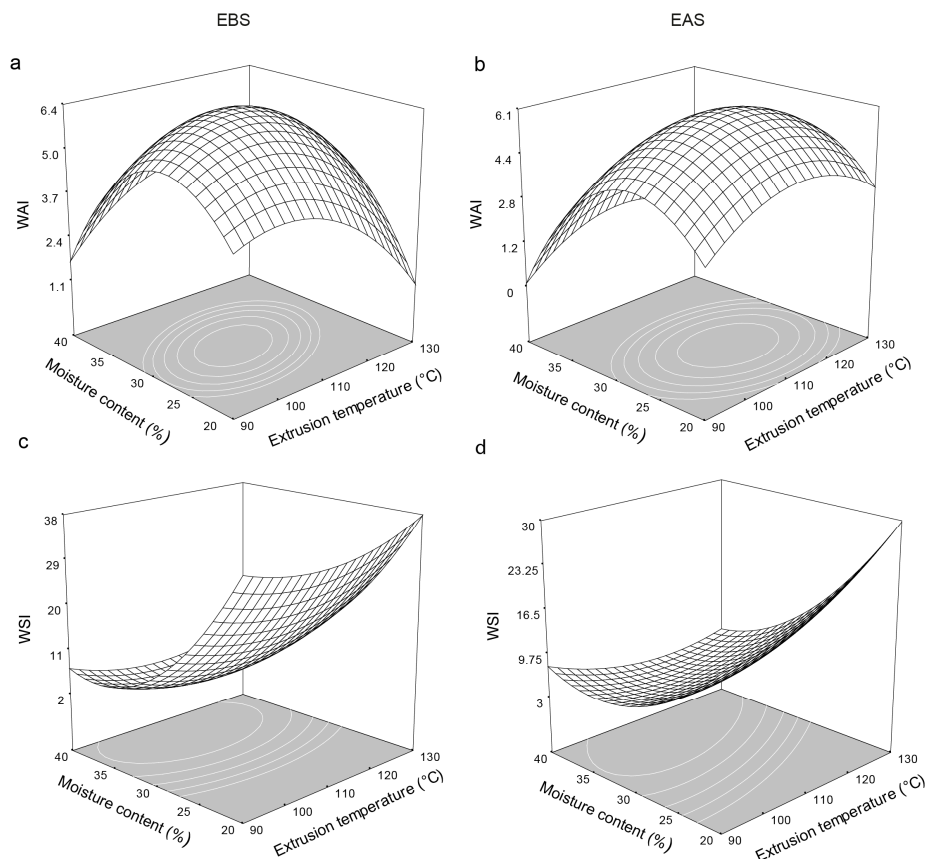


Figure 1. Effect of extrusion temperature and moisture content on water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) at a screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)—WAI of EBS; (b)—WAI of EAS; (c)—WSI of EBS and (d)—WSI of EAS.

2.5. Viscoelastic Properties

The storage modulus, G' , is a measure of the amount of energy stored in materials and recovered during cycling, which is indicative of the solid or elastic characteristic of the materials. Another parameter that indicates the physical behavior of a system is the loss modulus (G''), which shows the liquid or viscous behavior [42,43]. The extrusion temperature, moisture content, and screw speed significantly ($p < 0.05$) affected both G' and G'' for the EBS and EAS. Figure 2a,b shows the effects of the extrusion temperature and moisture content on the storage modulus (G') of the EBS and EAS, respectively. G' for both the EBS and EAS showed similar trends with increasing extrusion temperature and moisture content. G' increased to a maximum of 225.87 Pa for the EBS containing 29.34% moisture and extruded at 110.46 °C and 277.98 rpm (Figure 2a) and increased to a maximum of 57.83 Pa for the EAS containing 27.6% moisture and extruded at 117.7 °C and 279.26 rpm (Figure 2b). G'' for both the EBS and EAS also showed similar trends with increasing extrusion temperature and moisture content. G'' increased to a maximum of 45.53 Pa for the EBS containing 28.9% moisture and extruded at 110.92 °C and 277.15 rpm, which is similar to the values for the EAS, indicating that storage had minimal effects on the viscous behavior of the extrudates. The relationship between the two moduli was determined through $\tan \delta = G''/G'$, which is a useful indicator of the relative contributions of the viscous (G'') and elastic (G') components to the viscoelastic properties of a material. The extrusion temperature and moisture content both significantly ($p < 0.05$) affected $\tan \delta$ for both the EBS and EAS, as shown in Table 5. G' and G'' both increased with increasing extrusion temperature (Figure 2f). The $\tan \delta$ reached a saddle point of 0.20 for the EBS containing 28.94% moisture and extruded at 116.62 °C and 309.52 rpm and a minimum of 0.06 for the EAS containing 33.62% moisture and extruded at 116.79 °C and 286.57 rpm (Figure 2e). The low values of $\tan \delta$ indicate that the material was more

elastic than viscous [43]. The magnitudes of the elasticity and viscosity depend not only on the density, rigidity, and spatial distribution of the granules and on the effective contacts between the granules [43] but also on the physical transformations and on the extent of starch molecule rupture generated during extrusion [42]. These low values of $\tan \delta$ also are related with RS formation, WAI, WSI and η , since to under the same predicted conditions by the model for low values of $\tan \delta$ lower RS, apparent viscosity and WSI values (Figure 3b,d and Figure 1d, respectively), and high values of WAI (Figure 1b) were observed. In addition, these behaviors were related with the prediction of a maximum value for G' (Figure 2b).

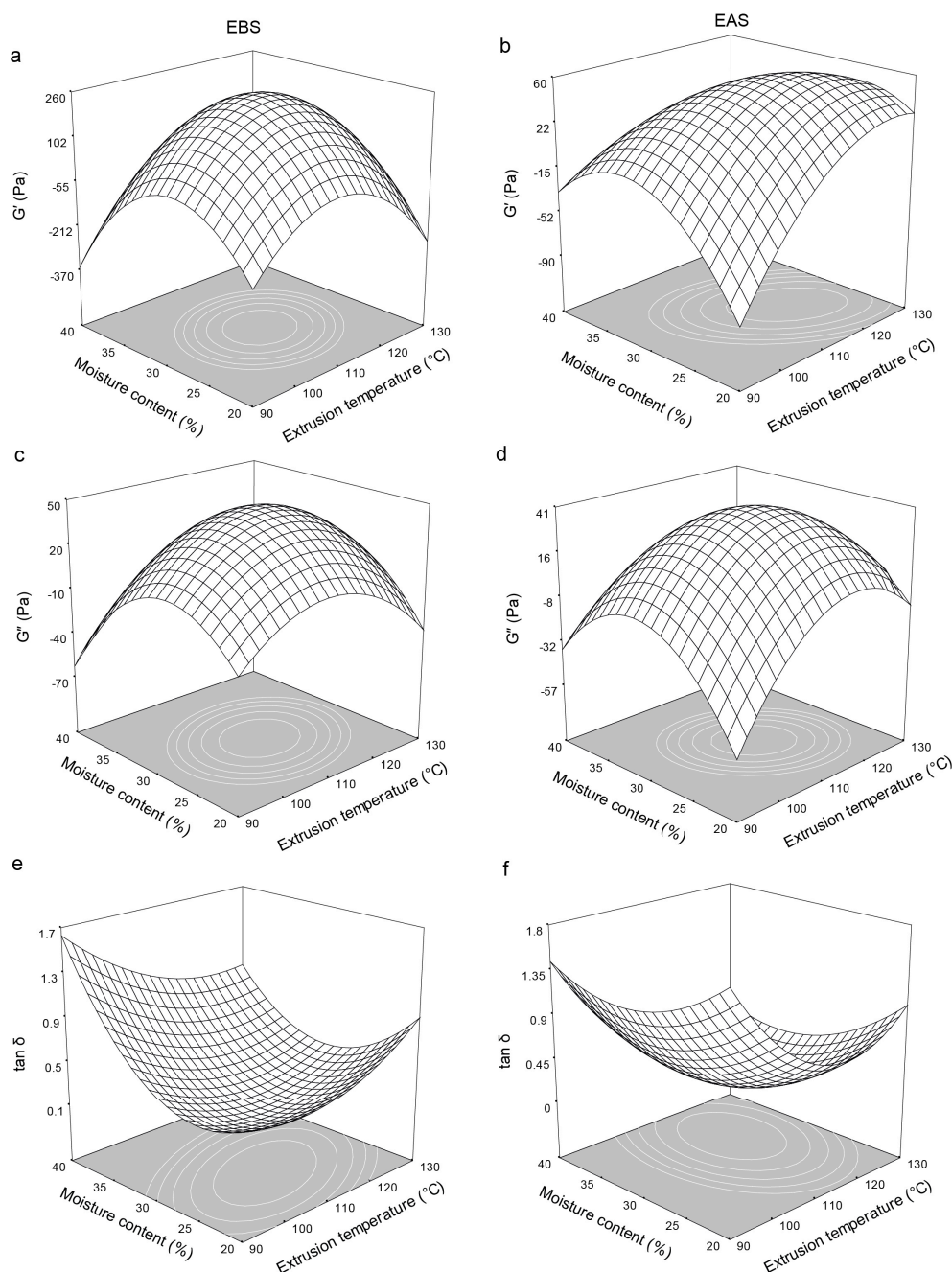


Figure 2. Effect of extrusion temperature and moisture content on: loss modulus (G'), stored modulus (G'') and the ratio of loss modulus/storage ($\tan \delta$) at a screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)— G' of EBS; (b)— G' of EAS; (c)— G'' of EBS; (d)— G'' of EAS; (e)— $\tan \delta$ of EBS; (f)— $\tan \delta$ of EAS.

The extrusion temperature and moisture content also significantly ($p < 0.05$) affected the apparent viscosity (η) of the EBS and EAS. The apparent viscosity increased to a maximum of 31.36 Pa·s for the EBS containing 28.46% moisture and extruded at 113.52 °C and 271.8 rpm (Figure 3a) and to a maximum of 21.59 Pa·s for the EAS containing 29.16% moisture and extruded at 112.77 °C and 278.58 rpm (Figure 3b) with increasing extrusion temperature and moisture content. Successive increases or decreases in the extrusion temperature and moisture content reduced η due to starch degradation during processing [25,38] or to low starch gelatinization [24,37], respectively. This behavior also was found in WAI, having a high relation with the rheological parameters (G' , G'' and η) obtained. Since at increases or decreases in the extrusion temperature and moisture content the WAI decreased due to low viscosity obtained under these conditions.

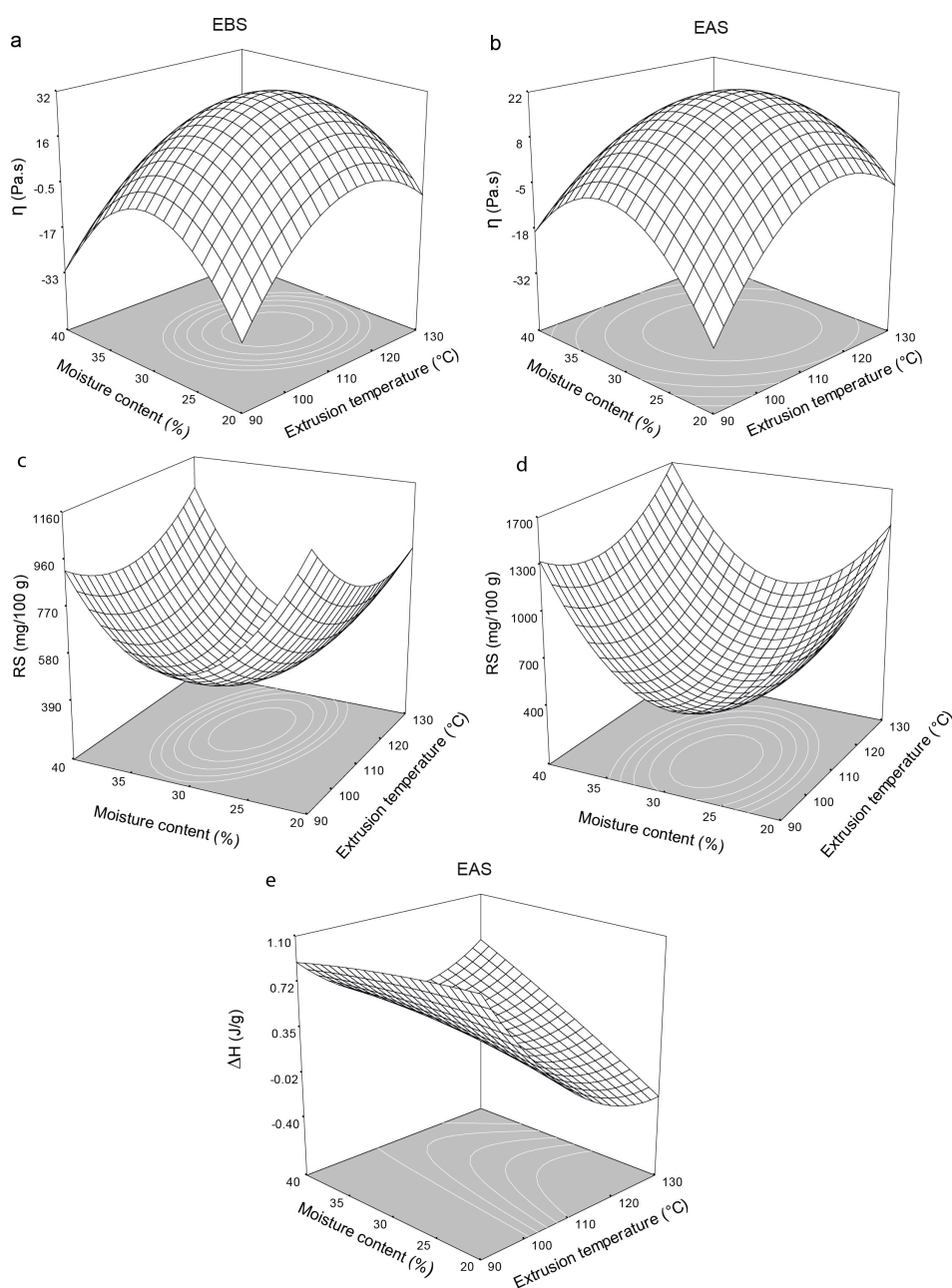


Figure 3. Effect of extrusion temperature and moisture content on apparent viscosity (η), resistant starch (RS) and enthalpy (ΔH) at screw speed of 280 rpm on extruded flours before the storage (EBS) and extruded flours after the storage at 4 °C for 120 h (EAS). (a)— η of EBS, (b)— η of EAS, (c)—RS of EBS, (d)—RS of EAS, (e)— ΔH of EAS.

2.6. Resistant Starch (RS) Content

The moisture content, extrusion temperature, and screw speed all significantly affected the amount of RS generated in the EBS and EAS (Table 4) through the quadratic effect. The fitted data model predicted that a significant amount of RS would form in the EBS, which explains the estimated 85% of the variability in the data. The adjusted second-order model for the EAS, however, did not show any significant fit, which explains 73% of the variability in the data. Figure 3c shows the effects of the extrusion temperature and moisture content on the formation of RS in the EBS, reaching a minimum of 0.380 g/100 g for the EBS containing 30.3% moisture and extruded at 112.8 °C and 276.8 rpm.

Successive increases or decreases in the extrusion temperature and the moisture content increased the amount of RS (0.960–1.100 g/100 g) formed in the EBS. The formation of RS in the EAS showed a similar trend and was significantly affected by the screw speed. The EAS containing 29.4% moisture and extruded at 101.6 °C and 286.4 rpm contained a minimum of 0.400 g/100 g of RS (Figure 3d) because the shear stress during extrusion provoked the amylose molecules to break down thereby producing less-polymerized starch molecules, which could not be incorporated into the crystal structure thereby decreasing the amount of RS formed [20,35]. Moreover, other factors such as residence time have been associated with low levels of RS formation. The starch structure is completely damaged during long residence times because the solubilization of amylose molecules and the swelling of the starch granules causes the starch grains to lose their crystallinity [23,32] thereby leading to low RS formation. At higher extrusion temperatures and moisture contents, the model predicts that more RS (1.300–1.700 g/100 g) (Figure 3d) will form. The formation of RS in the EAS (Figure 3d) is attributed either to better nucleation and elongation of amylose and amylopectin chains, which facilitate recrystallization, or to retrogradation [20,32,44,45], where starch molecules may reassociate and form tightly packed structures stabilized by hydrogen bonding [16]. For this reason the water absorption and viscosity decreased, having relation with the low WAI and rheological parameters values (G' , G'' and η) obtained. The best yield of RS obtained in the EAS was 1.134 g/100 g, corresponding to an increase of 68% compared to native starch. This finding show that the extrusion process combined with storage at low temperature is a viable alternative for RS production, through an environment friendly process. This amount of RS was similar to those previously reported by Gonzalez-Soto et al. and Hagenimana et al. [23,25] who obtained RS yields of 0.70–1.30 and 0.90–3.10 g/100 g from cornstarch and rice starch, respectively, but is higher than those previously reported by Faraj et al. [20] who obtained RS yields of 0.017–0.050 g/100 g from extruded barley flour. As can be seen in Table 2 the increment of RS was higher in the most treatments stored at low temperature (EBS) compared to EAS treatments, generating an average increase of 26%.

2.7. Thermal Properties

The gelatinization enthalpy is a measure of the crystallinity of the amylopectin, indicating the quality and quantity of the starch crystals [46], and of the amount of energy required for disrupting the H-bonding within junction zones [47]. Two endothermic transitions were found for the native cornstarch: the first corresponding to starch gelatinization and the second to RS formation. T_g and ΔH for the first endothermic transition for the native cornstarch were 69.89 °C and 9.33 J/g, respectively. Similar results have previously been reported [39,42,48,49]. For the second endothermic transition, T_g and ΔH were 102 °C and 0.06 J/g, respectively. The native starch showed high enthalpies because it had not been extruded. The extrusion temperature and the moisture content and the screw speed and extrusion temperature significantly affected the gelatinization enthalpy of the EAS through linear and quadratic effects, respectively (Table 5). The proposed model adequately estimated the data variability. Figure 3e shows the ΔH of the EAS containing different amounts of moisture and extruded at different temperatures. At low temperatures and all the moisture contents, the gelatinization enthalpies increased (0.9 J/g) while at the high temperature, ΔH decreased to 0.38 J/g. The decrease in enthalpy was due either to starch dextrinization or to macromolecules fractionating under the low moisture levels and high temperatures during shear processing [5,42,50] and has previously been

associated with the melting of an amorphous amylose-lipid complex [26], as shown in a microscopic analysis (Figure 4h).

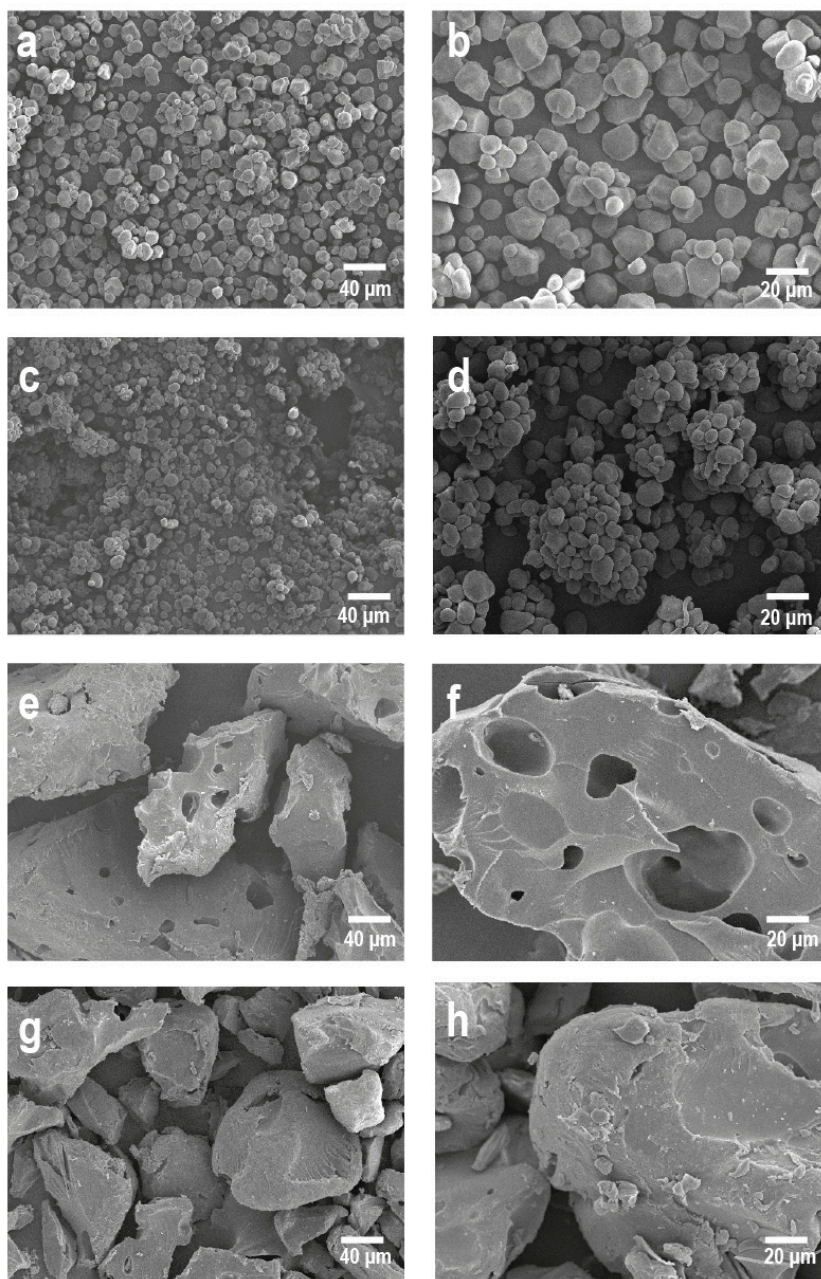


Figure 4. Micrographics SEM of cornstarch (a—200 \times , b—750 \times), standard resistant starch 52% (c—200 \times , d—750 \times) and extruded starch (e/g—200 \times , f/h—750 \times).

2.8. Scanning Electron Microscopy (SEM)

Figure 4a,b shows ~15-micron-diameter native cornstarch granules with smooth, defect-free, round or elliptical surfaces, which do not show any signs of damage [1,26,42,51]. Figure 4c,d shows compactly agglomerated 20–25-micron-diameter starch granules containing 52% RS. Figure 4e,f shows how in the extruded starch, the granular structure of native starch is destroyed during the ECP as a result of high temperatures, stress, and pressure, producing gelatinization and starch dextrinization [20,32,52,53], which are the main mechanisms of starch fragmentation during the ECP [5,42,50]. Amorphous, porous structures were formed in the EAS because the pressure difference

between the extrudate leaving the extruder and the starch still inside the extruder allowed water molecules to evaporate from the extrudate [49], as shown in Figure 4f for 20-micron-diameter EAS granules.

The amylose leached out of the starch granules during extrusion cooking and bound to the surface of the extruded product, as shown in Figure 4h [54]. The starch granules became more irregular and appeared less granular as a consequence of gelatinization, which had provoked coupled starch granules to form a sponge-like structure within the inner region of the retrograded starch [52]. In contrast, the RS showed increased crystallinity and formed a larger, more compact laminiplantation structure [17].

2.9. Identification of Optimum Conditions

Canonical analysis [39] was applied to locate the stationary points for the RS, WAI, and WSI responses. An optimization graph of the multianswers was applied [55,56], and the values were grouped and selected for the general optimization of this process. The criterion for the graphic optimization was to find the conditions under which the RS contents were the highest while maintaining the highest WAI and the lowest WSI. The region satisfying this criterion served as a basis for determining the optimum conditions for the process. The overlaid contour plots of the individual RS, WSI, and WAI plots resulted in an optimal region (Figure 5). The predicted optimum conditions were as follows: extrusion temperature (129–131 °C), moisture content (25%–27%), and screw speed (280 rpm), which generated 0.920–0.990 g/100 g for RS content, 3.81–4.98 for the WAI, 21.06 and 19.4–22.23 for the WSI; $\eta = 1.77$ –3.81 Pa·s, $G' = 42.33$ –48.46 Pa, and $G'' = 7.27$ –13.83 Pa for the rheological properties; and 0.08–0.13 J/g for the gelatinization enthalpy.

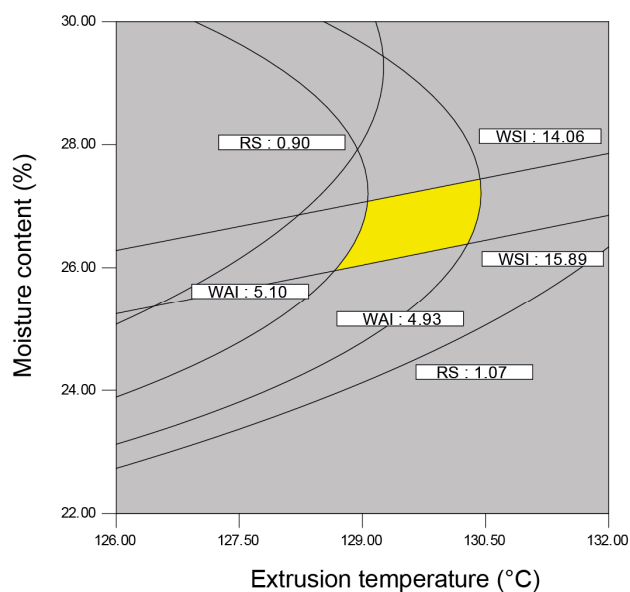


Figure 5. Optimized region obtained of contour plots of the physicochemical characteristics of the flours obtained by extrusion (WAI = water absorption index, WSI = water solubility index, RS = resistant starch).

The identified optimum conditions were verified by performing an independent experiment with the EAS. Table 6 shows the experimentally obtained values and the values estimated by the model for the optimization process. The amounts of error between the experimentally obtained values and the values estimated by the model were 9.09%, 10.33%, and 3.41% for the RS content, the WAI, and the WSI, respectively.

Table 6. Experimental and predicted values of the responses variables.

	Experimental	Estimated	% Error
WAI	4.34 ± 0.15	4.84	10.33
WSI	21.06 ± 0.52	20.34	3.41
RS	0.88 ± 0.08	0.96	9.09

Values presented are the average of triplicate of the experiment ± standard deviation.

3. Materials and Methods

3.1. Raw Material

The cornstarch (GPCTM, Muscatine, IA, USA) used for this study was analyzed for moisture, protein, fat, crude fiber, and ash contents according to methods 934.06, 920.52, 920.152, 945.16, 940.26, and 962.09, respectively [57]. The carbohydrate content was obtained by difference. Additionally, the RS content, apparent viscosity (η), storage modulus (G'), loss modulus (G''), the ratio of loss modulus/storage modulus ($\tan \delta$) gelatinization enthalpy (ΔH), gelatinization temperature (T_g), water absorption index (WAI), and water solubility index (WSI) were determined.

3.2. Chemicals and Reagents

Maleic acid and sodium azide were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A RS assay kit including a standard resistant starch with 52% of RS was obtained from Megazyme (Wicklow, Ireland). The other analytical-grade solvents and reagents used for the extractions were obtained from J.T. Baker (Mexico City, Mexico).

3.3. Extrusion Cooking

Starch whose initial moisture content was 10.9% was fed into an extruder at 15.97 kg/h d.b. and was adjusted to 20%, 25%, 30%, 35%, and 40% moisture contents and extruded through a 600-mm-long twin-screw co-rotating pilot scale (BTSK-20/40, Bühler AG, Uzwil, Switzerland), where the length to diameter ratio (L/D) = 20. The die diameter was 4 mm, and the screw configuration was specifically selected to create high levels of shear, the first section contained only conveying elements, with the next containing both conveying and kneading elements. Finally, the high-shear section contained conveying, reverse conveying, and kneading elements [58], according to the method described by Ruiz-Gutiérrez et al. [59]. The starch was extruded at 90, 100, 110, 120, and 130 °C, and the extrusion temperature was controlled using a TT-137N water heater (Tool-temp, Sulgen, Switzerland) at the end stage of the extruding chamber. Further, the 180, 240, 280, 320, and 360 rpm screw speeds were evaluated according to the experimental design listed in Table 2. For increase the levels of RS, the extrudates were stored at 4 °C for 120 h in plastic bags and later air-dried at 50 °C for 8 h in a convection oven.

3.4. Extruded Cornstarch Flours

The extruded cornstarch was milled (Hammer mill, Pulvex model 200, Mexico City, Mexico), sieved with a 0.8-mm sieve, and re-sieved with an 80-mesh (177-micron) sieve to obtain uniform EBS and EAS particles, which were stored in plastic bags until the analysis.

3.5. Physical and Chemical Analyses of Extruded Products

3.5.1. Water Absorption Index (WAI) and Water Solubility Index (WSI)

The WAI and WSI were determined in triplicate according to the method described by Anderson et al. [60]. Briefly, 2.5-g samples were weighed, placed in plastic tubes, mixed with 30 mL of distilled water at 30 °C, and shaken on a vortex mixer for 30 min. The resulting slurries were centrifuged

at $3000 \times g$ for 15 min (Thermo IEC model CL3-R, Waltham, MA, USA). The supernatant was decanted and evaporated at $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ until dry. The residue from the supernatant and the sediment remaining in the tubes after decanting the supernatant were weighed. The ratio of the sediment-forming solids to the soluble solids was measured as g water/g sample.

3.5.2. Thermal Analysis

Thermal analysis by differential scanning calorimetry (DSC) was used to determine the gelatinization temperature and the enthalpy of starch gelatinization of the EAS, following the method used by Hasjim and Jane [13]. Two mg of EAS was placed in a pan with $20\text{ }\mu\text{L}$ of distilled water. The pan was sealed hermetically; an empty pan was used as a reference. A calorimeter from TA Instruments (Q-200, Crawley, UK), with a program of 30 to $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ and a temperature ramp of $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ was used. The obtained thermograms were analyzed with universal analysis software (TA Instruments, Crawley, UK) to determine the gelatinization temperature (T_g) and gelatinization enthalpy (ΔH). Each measurement was performed twice.

3.5.3. Resistant Starch (RS) Content

The RS content was determined using an enzymatic kit (Megazyme, Wicklow, Ireland) and the enzymatic method used by Goñi et al. [61], which is based on the AOAC method 2002.02 [57].

3.5.4. Rheological Properties

The rheological properties (G' , G'' , and $\tan \delta$) were determined using a rheometer (TA Instruments AR 2000EX, Crawley, UK). Starch slurry containing 10% solids was used. According to the moisture content of each sample, a volume of water was added gradually, and the mixture was stirred in a beaker until a semifluid mass was obtained. The instrument was equipped with stainless steel parallel-plate geometry (40 mm diameter). The sample was covered completely with the plate, and excess sample was eliminated. All measurements were carried out at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and a 1000-micron gap. To determine the linear viscoelastic region, strain amplitude sweeps were run from 0.1% to 5% at a frequency value of 1 Hz. The analyzed samples presented similar response with 2% strain. The flow sweep was performed at a shear rate ($\dot{\gamma}$) of 0.1 to $15\text{ }1/\text{s}$ thereby relating shear stress (σ) and shear rate ($\dot{\gamma}$) to calculate the apparent viscosity (η) using Herschel Bulkley model [62] at shear rate value of $1\text{ }1/\text{s}$. Oscillatory tests were performed at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ over the frequency range of 0.1–100 Hz, with strain amplitude constant of 2% for all samples. The comparison between treatments was carried out at 2.51 Hz where $\Delta \tan$ presented a constant behavior [63,64]. Using the above approach, it was possible to determine the dynamic storage shear modulus (G'), the loss shear modulus (G''), and $\tan \delta$ (i.e., G''/G').

3.5.5. Scanning Electron Microscopy

The EBS and EAS samples, whose particle sizes $<0.15\text{ mm}$ and whose moisture contents were 1%, were stuck to stubs and coated with a gold layer under high vacuum in a Denton vacuum evaporator (Desk II) set to $7.031 \times 10^{-2}\text{ kg}/\text{cm}^2$. The samples were examined using a scanning electron microscope (JSM-5800LV, JEOL, Akishima, Japan) equipped with a secondary electron detector operated at an acceleration rate of 10 kV.

3.6. Experimental Design and Statistical Analysis

A second-order, three-variable, five-level, central-composite design was used, resulting 20 treatments, which axial and central points were done by duplicate. The results were analyzed using

response surface methodology [65]. The feed moisture content, extrusion temperature, and screw speed were independent variables. The fitted second-order polynomial is given by:

$$Y_i = b_0 + \sum_{j=1}^3 b_j X_j + \sum_{j=1}^3 b_{jj} X_j^2 + \sum_{j=1}^2 \sum_{k=j+1}^3 b_{jk} X_j X_k, \quad (1)$$

where Y_i is the predicted response, X_i and X_j are the input variables, b_0 , b_i , b_{ii} , b_{ij} are regression coefficients of the intercept, linear effects, squared effects, and interactions respectively. The variable combination is shown in Table 7. Analysis of variance, regression, and canonical analysis for the nature of the response variable were performed on Design Expert software v. 6.01 (Stat-Ease Inc. 2001, Minneapolis, MN, USA) and Minitab Release 14.1 software (Minitab Inc., State College, PA, USA). Significant differences were defined as ($p < 0.05$).

Table 7. Process variables and levels used in the experimental design.

Process Variables	Levels				
	−2	−1	0	+1	+2
Extrusion temperature (°C)	90	100	110	120	130
Moisture content (%)	20	25	30	35	40
Screw speed (rpm)	200	240	280	320	360

4. Conclusions

Extrusion is an alternative method of producing RS. The starch moisture content and the extrusion temperature significantly changed the physical properties of the native cornstarch by increasing the WAI and WSI and decreasing the viscosity and enthalpy because of the ECP-induced damage in the starch. The EAS previously extruded at 120 °C and a screw speed of 240 rpm from starch containing 35% moisture contained the most RS (1.134 g/100 g). Despite not generating high RS content, the ECP produced 68% more RS than that which naturally occurs in native cornstarch with the added advantages of the ECP being a high-productivity, faster, energy-efficient, continuous process.

Acknowledgments: The authors acknowledge the, Universidad Autónoma de Nuevo León, Universidad Autónoma de Chihuahua and the Centro de Biotecnología-FEMSA of the Tecnológico de Monterrey for supporting the project. This paper is based on the postgraduate studies of Neder-Suarez, who was supported by a doctoral scholarship from the Science and Technology National Council of Mexico (CONACyT).

Author Contributions: D.N.-S. designed and led the research and wrote the paper. A.Q.-R. and C.A.A.-G. designed the research and collaborated to write the paper. E.P.-C. collaborated in the extrusion experiments. M.G.d.J.A.-G. collaborated in the experimental phase research. J.G.B.-G. collaborated in the experimental phase research. C.L.G.-D. collaborated in the experimental phase research. M.A.N.-G. collaborated in the experimental phase research. D.L.-G. collaborated in the experimental phase research. J.A.J.-C. collaborated in the experimental design planning.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

EBS, Extrusion before storage; EAS, Extrusion after storage for 120 h at 4 °C; ECP, Extrusion-cooking process; G' —loss modulus; G'' —storage modulus; η —apparent viscosity; RS—Resistant starch; WAI—water absorption index; WSI—water solubility index; T_g —gelatinization temperature; ΔH —enthalpy.

References

1. Lopez-Rubio, A.; Htoon, A.; Gilbert, E.P. Influence of extrusion and digestion on the nanostructure of high-amylose maize starch. *Bimonthly* **2007**, *8*, 1564–1572. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Witczak, M.; Ziobro, R.; Juszczak, L.; Korus, J. Starch and starch derivatives in gluten-free systems. *J. Cereal Sci.* **2016**, *67*, 46–57. [[CrossRef](#)]

3. Englyst, H.N.; Kingman, S.M.; Cummings, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1996**, *46*, S33–S50.
4. Haralampu, S.G. Resistant starch—A review of the physical properties and biological impact of RS 3. *Carbohydr. Polym.* **2000**, *41*, 285–292. [[CrossRef](#)]
5. Kim, J.H.; Tanhehco, E.J.; Ng, P.K.W. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food Chem.* **2006**, *99*, 718–723. [[CrossRef](#)]
6. Perera, A.; Meda, V.; Tyler, R.T. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 1959–1974. [[CrossRef](#)]
7. Thompson, D.B. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Sci. Technol.* **2000**, *11*, 245–253. [[CrossRef](#)]
8. Chung, H.J.; Hoover, R.; Liu, Q. The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *Int. J. Biol. Macromol.* **2009**, *44*, 203–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Koksel, H.; Masatcioglu, T.; Kahraman, K.; Ozturk, S.; Basman, A. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *J. Cereal Sci.* **2008**, *47*, 275–282. [[CrossRef](#)]
10. Onyango, C.; Bley, T.; Jacob, A.; Henle, T.; Rohm, H. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydr. Polym.* **2006**, *66*, 494–499. [[CrossRef](#)]
11. Xie, X.S.; Liu, Q.; Cui, S.W. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Res. Int.* **2006**, *39*, 332–341. [[CrossRef](#)]
12. Song, D.; Thio, Y.S.; Deng, Y. Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *85*, 208–214. [[CrossRef](#)]
13. Hasjim, J.; Jane, J.L. Production of Resistant Starch by Extrusion Cooking of Acid-Modified Normal-Maize Starch. *J. Food Sci.* **2009**, *74*, C556–C562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Dundar, A.N.; Gocmen, D. Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* **2013**, *97*, 764–771. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Nasrin, T.A.A.; Anal, A.K. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocoll.* **2014**, *35*, 403–409. [[CrossRef](#)]
16. Ozturk, S.; Koksel, H.; Ng, P.K. Production of resistant starch from acid-modified amylo type starches with enhanced functional properties. *J. Food Eng.* **2011**, *103*, 156–164. [[CrossRef](#)]
17. Zhang, H.; Jin, Z. Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydr. Polym.* **2011**, *86*, 1610–1614. [[CrossRef](#)]
18. Moad, G. Chemical modification of starch by reactive extrusion. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 218–237. [[CrossRef](#)]
19. Dust, J.M.; Gajda, M.A.; Flickinger, A.E.; Burkhalter, T.M.; Merchen, N.R.; Fahey, G.C., Jr. Extrusion conditions affect chemical composition and in vitro digestion of selected food ingredients. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2989–2996. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Faraj, A.; Vasanathan, T.; Hoover, R. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Res. Int.* **2004**, *37*, 517–525. [[CrossRef](#)]
21. Stojceska, V.; Ainsworth, P.; Plunkett, A.; İbanoğlu, Ş. The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chem.* **2010**, *121*, 156–164. [[CrossRef](#)]
22. Agustini-Osornio, J.C.; González-Soto, R.A.; Flores-Huicochea, E.; Manrique-Quevedo, N.; Sánchez-Hernández, L.; Bello-Pérez, L.A. Resistant starch production from mango starch using a single-screw extruder. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 2105–2110. [[CrossRef](#)]
23. Gonzalez-Soto, R.A.; Sanchez-Hernandez, L.; Solorza-Feria, J.; Nunez-Santiago, C.; Flores-Huicochea, E.; Bello-Perez, L.A. Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. *Food Sci. Technol. Int.* **2006**, *12*, 5–11. [[CrossRef](#)]
24. Sarawong, C.; Schoenlechner, R.; Sekiguchi, K.; Berghofer, E.; Ng, P.K. Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food Chem.* **2014**, *143*, 33–39. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

25. Hagenimana, A.; Ding, X.; Fang, T. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *J. Cereal Sci.* **2006**, *43*, 38–46. [[CrossRef](#)]
26. Cieřla, K.; Eliasson, A.C. DSC studies of retrogradation and amylose–lipid complex transition taking place in gamma irradiated wheat starch. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **2007**, *265*, 399–405. [[CrossRef](#)]
27. Van Hung, P.; Vien, N.L.; Phi, N.T.L. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food Chem.* **2016**, *191*, 67–73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Mun, S.H.; Shin, M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chem.* **2006**, *96*, 115–121. [[CrossRef](#)]
29. Waduge, R.N.; Hoover, R.; Vasanthan, T.; Gao, J.; Li, J. Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. *Food Res. Int.* **2006**, *39*, 59–77. [[CrossRef](#)]
30. Wandee, Y.; Puttanlek, C.; Rungsardthong, V.; Pancha-arnon, S.; Uttapap, D. Effects of gelatinization and gel storage conditions on the formation of canna resistant starch. *Food Bioprocess. Technol.* **2012**, *5*, 2665–2673. [[CrossRef](#)]
31. Wang, Y.J.; Truong, V.D.; Wang, L. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *52*, 327–333. [[CrossRef](#)]
32. Vasanthan, T.; Gaosong, J.; Yeung, J.; Li, J. Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chem.* **2002**, *77*, 35–40. [[CrossRef](#)]
33. Hoover, R.; Manuel, H. The effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylomaize V starches. *J. Cereal Sci.* **1996**, *23*, 153–162. [[CrossRef](#)]
34. Shi, M.M.; Gao, Q.Y. Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *84*, 1151–1157. [[CrossRef](#)]
35. González-Soto, R.A.; Mora-Escobedo, R.; Hernández-Sánchez, H.; Sánchez-Rivera, M.; Bello-Pérez, L.A. Extrusion of banana starch: Characterization of the extrudates. *J. Sci. Food Agric.* **2007**, *87*, 348–356. [[CrossRef](#)]
36. Wang, N.; Maximiuk, L.; Toews, R. Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process. *Food Chem.* **2012**, *133*, 742–753. [[CrossRef](#)]
37. Zhu, L.J.; Shukri, R.; de Mesa-Stonestreet, N.J.; Alavi, S.; Dogan, H.; Shi, Y.C. Mechanical and microstructural properties of soy protein–high amylose corn starch extrudates in relation to physicochemical changes of starch during extrusion. *J. Food Eng.* **2010**, *100*, 232–238. [[CrossRef](#)]
38. Hernandez-Diaz, J.R.; Quintero-Ramos, A.; Barnard, J.; Balandran-Quintana, R.R. Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Sci. Technol. Int.* **2007**, *13*, 301–308. [[CrossRef](#)]
39. Masatcioglu, M.T.; Yalcin, E.; Hwan, P.J.; Ryu, G.H.; Celik, S.; Koksel, H. Hull-less barley flour supplemented corn extrudates produced by conventional extrusion and CO₂ injection process. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2014**, *26*, 302–309. [[CrossRef](#)]
40. Bhattacharya, S.; Sudha, M.L.; Rahim, A. Pasting characteristics of an extruded blend of potato and wheat flours. *J. Food Eng.* **1999**, *40*, 107–111. [[CrossRef](#)]
41. Rodríguez-Miranda, J.; Delgado-Licon, E.; Ramírez-Wong, B.; Solís-Soto, A.; Vivar-Vera, M.A.; Gómez-Aldapa, C.A.; Medrano-Roldán, H. Effect of moisture, extrusion temperature and screw speed on residence time, specific mechanical energy and psychochemical properties of bean four and soy protein aquaculture feeds. *J. Anim. Prod. Adv.* **2012**, *2*, 65–73.
42. Singh, N.; Singh, J.; Kaur, L.; Sodhi, N.S.; Gill, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* **2003**, *81*, 219–231. [[CrossRef](#)]
43. Karim, A.A.; Norziah, M.H.; Seow, C.C. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.* **2000**, *71*, 9–36. [[CrossRef](#)]
44. Chanvrier, H.; Uthayakumaran, S.; Appelqvist, I.A.; Gidley, M.J.; Gilbert, E.P.; López-Rubio, A. Influence of storage conditions on the structure, thermal behavior, and formation of enzyme-resistant starch in extruded starches. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 9883–9890. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Yadav, B.S.; Sharma, A.; Yadav, R.B. Resistant starch content of conventionally boiled and pressure-cooked cereals, legumes and tubers. *J. Food Sci. Technol.* **2010**, *47*, 84–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Buckow, R.; Heinz, V.; Knorr, D. High pressure phase transition kinetics of maize starch. *J. Food Eng.* **2007**, *81*, 469–475. [[CrossRef](#)]

47. Lazaridou, A.; Biliaderis, C.G.; Izydorczyk, M.S. Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. *Food Hydrocoll.* **2003**, *17*, 693–712. [[CrossRef](#)]
48. Alamri, M.S.; Mohamed, A.A.; Hussain, S. Effects of alkaline-soluble okra gum on rheological and thermal properties of systems with wheat or corn starch. *Food Hydrocoll.* **2013**, *30*, 541–551. [[CrossRef](#)]
49. Jongsutjarittam, O.; Charoenrein, S. The effect of moisture content on physicochemical properties of extruded waxy and non-waxy rice flour. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *114*, 133–140. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Parada, J.; Aguilera, J.M.; Brennan, C. Effect of guar gum content on some physical and nutritional properties of extruded products. *J. Food Eng.* **2011**, *103*, 324–332. [[CrossRef](#)]
51. Fannon, J.E.; Hauber, R.J.; BeMiller, J.N. Surface pores of starch granules. *Cereal Chem.* **1992**, *69*, 284–288.
52. Reddy, C.K.; Haripriya, S.; Mohamed, A.N.; Suriya, M. Preparation and characterization of resistant starch III from elephant foot yam (*Amorphophallus paeonifolius*) starch. *Food Chem.* **2014**, *155*, 38–44. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Martínez-Bustos, F.; Chang, Y.K.; Bannwart, A.C.; Rodriguez, M.E.; Guedes, P.A.; Gaiotti, E.R. Effects of calcium hydroxide and processing conditions on corn meal extrudates. *Cereal Chem.* **1998**, *75*, 796–801. [[CrossRef](#)]
54. Gill, S.; Vasanthan, T.; Ooraikul, B.; Rossnagel, B. Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *J. Cereal Sci.* **2002**, *36*, 219–237. [[CrossRef](#)]
55. Quintero-Ramos, A.; Bourne, M.; Barnard, J.; Gonzalez-Laredo, R.; Anzaldúa-Morales, A.; Pensaben-Esquivel, M.; Maquez-Melendez, R. Low temperature blanching of frozen carrots with calcium chloride solutions at different holding times on texture of frozen carrots. *J. Food Process. Preserv.* **2002**, *26*, 361–374. [[CrossRef](#)]
56. Gómez-Moriél, C.B.; Quintero-Ramos, A.; Camacho-Dávila, A.; Ruiz-Gutiérrez, M.G.; Talamás-Abbud, R.; Olivas-Vargas, R.; Barnard, J. Optimization of chipotle pepper smoking process using response surface methodology. *J. Food Qual.* **2012**, *35*, 21–33. [[CrossRef](#)]
57. AOAC. *International Official Methods of Analysis*; AOAC: Gaithersburg, MD, USA, 1998.
58. Cortés-Ceballos, E.; Pérez-Carrillo, E.; Serna-Saldívar, S.O. Addition of Sodium Stearoyl Lactylate to Corn and Sorghum Starch Extrudates Enhances the Performance of Pregelatinized Beer Adjuncts. *Cereal Chem.* **2015**, *92*, 88–92. [[CrossRef](#)]
59. Ruiz-Gutiérrez, M.G.; Amaya-Guerra, C.A.; Quintero-Ramos, A.; Pérez-Carrillo, E.; Ruiz-Anchondo, T.D.J.; Báez-González, J.G.; Meléndez-Pizarro, C.O. Effect of extrusion cooking on bioactive compounds in encapsulated red cactus pear powder. *Molecules* **2015**, *20*, 8875–8892. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Anderson, R.A.; Conway, H.F.; Pfeifer, V.F.; Griffin, E.L. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Sci. Today* **1969**, *14*, 4–7.
61. Goñi, I.; Garcia-Diaz, L.; Mañas, E.; Saura-Calixto, F. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chem.* **1996**, *56*, 445–449. [[CrossRef](#)]
62. Rao, M.A. *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*; Springer Science & Business Media: New York, NY, USA, 2010; pp. 30–35.
63. Mendez-Montealvo, G.; Sánchez-Rivera, M.M.; Paredes-López, O.; Bello-Perez, L.A. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *Int. J. Biol. Macromol.* **2006**, *40*, 59–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Wang, B.; Wang, L.J.; Li, D.; Özkan, N.; Li, S.J.; Mao, Z.H. Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *77*, 472–481. [[CrossRef](#)]
65. Meyer, R.H. *Response Surface Methodology*; Allen and Bacon: Boston, MA, USA, 1971; pp. 126–175.

Sample Availability: Samples of the treatments are available from the authors.



© 2016 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).